Sofortwirkungen ionisierender Strahlen auf Ruhepotential, Leitfähigkeit und Aktionspotential sowie deren Temperaturabhängigkeit bei Nitella flexilis

Erwin M. Röttinger

1967

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546019_0033

Aus dem Strahlenbiologischen Institut der Universität München
Direktor: Professor Dr. Otto Hug

Sofortwirkungen ionisierender Strahlen auf Ruhepotential, Leitfähigkeit und Aktionspotential sowie deren Temperaturabhängigkeit bei *Nitella flexilis*

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig - Maximilians - Universität zu München

vorgelegt von

Erwin M. Röttinger
aus Augsburg

1968

Dissertations-Druck · Blasaditsch · Augsburg

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. O. HUG

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. K. THURAU

Dekan: Prof. Dr. F. HOLLE

Tag der mündlichen Prüfung 19.12.1967

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meinem verehrten Lehrer und Förderer,
Herrn Prof. Dr. Otto Hug, möchte ich herzlich
für die Überlassung des Themas, sowie für seine
Diskussionen und seine großzügige Unterstützung
der experimentellen Arbeiten danken.

Mein Dank gilt aber auch allen anderen Mitarbeitern
am Strahlenbiologischen Institut, die durch Anregungen
und Mithilfe zum Gelingen beigetragen haben,
insbesondere Herrn Dr. Harald Esch für die Einführung
in die Methodik.

Inhaltsübersicht

I. Die Zellmembran als Angriffspunkt ionisierender Strahlen 7

II. Elektrophysiologische Grundlagen 9

1) Membranpotential 9
2) Membranwiderstand 12
3) Aktionspotential 13

III. Material und Methoden 14

IV. Ergebnisse 18

1) Veränderungen des Ruhemembranpotentials 18
2) Veränderungen des Membranwiderstandes 24
3) Fluktuation von Widerstand und Potential 29
4) Elektrisch ausgelöste Aktionspotentiale unter Bestrahlung 30
5) Strahleninduzierte Aktionspotentiale 32
6) Reizschwellenversuche 35
7) Temperaturkoeffizienten des Ruhepotentials, des Membranwiderstandes und des Aktionspotentials und ihre Beeinflussung durch Strahlung 37

V. Diskussion 43

1) Vergleich der Versuchsergebnisse mit den Arbeiten anderer Autoren 43

2) Hypothesen zu den Wirkungsmechanismen ionisierender Strahlen 50

VI. Anhang

A 1) Ergänzung zur Diskussion Bergeder 1962
2) Berechnung von Aktivierungsenergien 57

B 1) Abschätzung der mittleren Photonenenergie
2) Statistik 64

VII. Zusammenfassung 67

VIII. Literaturverzeichnis 69

1. Die Zellmembran als Angriffspunkt ionisierender Strahlen

Schon in den ersten Hypothesen über die biologische Wirkung ionisierender Strahlen, so in der Lecithintheorie von SCHWARZ (1903), wurde die Vermutung geäußert, daß Strahlung Struktur und Funktion der Zellgrenzflächen verändern kann. Diese Frage spielte auch eine Rolle in den Arbeiten von LIEBER (1925), KROETZ (1926-28), BRUMMER (1926), LIECHTI (1926), SCHUBERT (1927), KOVACS (1927/28) und L. und V. NEU (1936). Neuere Ergebnisse führten wieder zu einem steigenden Interesse der Strahlenbiologen an Grenzflächen und Membranen.

Schon frühzeitig wurde eine Wirkung ionisierender Strahlen auf die Permeabilität von Zellmembranen diskutiert. So vermutete STRAUSS (1924), daß ionisierende Strahlung vor allem das Cholesterin zerstört, das der Autor als Hauptbestandteil der Zellmembran ansah. Nach seiner Ansicht verringert Cholesterin im Gegensatz zu Lecithin die Membrandurchlässigkeit. Durch diese Zerstörung komme es dann zu einem Überwiegen der antagonistischen Lecithinwirkungen. Damit sei die Ursache für sekundäre Veränderungen anderer Zellbestandteile gegeben.

Diese Ansicht wurde von HEILBRUNN und MAZIA (1936) weiter entwickelt, die eine veränderte Permeabilität auf Grund einer Veränderung des kolloidchemischen Zustandes des Protoplasmas, nämlich einer anfänglichen Verdünnung des Protoplasmas mit einer nachfolgenden Viskositätserhöhung und Koagulation, annahmen. Diese Reaktion soll nach Ansicht beider Autoren der Blutgerinnung entsprechen und von einer Veränderung der Calciumbindung verursacht sein. Calcium, das in der Rindenschicht gebunden ist, soll durch Strahlung freigesetzt werden und frei in das Protoplasma diffundieren. Dadurch werde die Rindenschicht verdünnt und durchlässiger, die Hauptmasse aber koaguliere und verliere dadurch ihre physiologischen Funktionen. Dieser Standpunkt wird von HEILBRUNN noch in einer späteren Veröffentlichung (1958) vertreten.

Auch PASYNSKII (1957) hält die Entgleisung der Permeabilität für den grundlegenden Strahlenschaden der Zelle. Wenn ionisierende Teilchen bestimmte Schichten in den Mikrostrukturen von Membranen treffen, geht nach seiner Ansicht die selektive Permeabilität verloren, und als Folge kommt es zur Entgleisung von Stoffwechselprozessen, die anfangs kaum merklich sind, sich später aber im Sinne eines Circulus vitiosus steigern.

Ausgehend von seinen Beobachtungen strahleninduzierter reflexartiger Reaktionen bei niederen Tieren und den späteren Untersuchungen mit SCHLIEP (1960) über Änderungen von Tonus und Motilität von Nerv-Muskel-Präparaten niederer Tiere kam auch HUG (1966) zu der Schlußfolgerung, daß zumindest bei solchen funktionellen Störungen die Zellmembran Angriffsort der Strahlung ist. Er sprach unter Hinweis auf die Biophysik des Sehvorganges (1960) die Vermutung aus, daß neben spezifischen molekularen und zellulären Photorezeptoren auch andere organische Moleküle und hochgeordnete molekulare Gefüge durch Ionisation und Anregung mit oder ohne Zwischenschaltung freier Radikale des Wassers zeitweilig in einen veränderten Energiezustand übergeführt werden, der zu Störungen der Zellmembran und ähnlich gebauter intrazellulärer Organellen führen kann. Temporäre Änderungen der Zellpermeabilität, deren Grad von der Dosisleistung abhängt, verschieben die Elektrolytgleichgewichte und sollen dadurch bioelektrische Vorgänge beeinflussen.

Ein direkter Nachweis von Störungen der Zellmembran und ihrer elektrischen Eigenschaften wurde zunächst an Pflanzenzellen durch intrazelluläre Messungen erbracht. Nach der Beobachtung von Radionastien bei *Mimosa pudica* (HUG und MILTENBURGER, 1962, HUG et al. 1964) konnten ESCH, MILTENBURGER und HUG (1964) durch intrazelluläre Messungen an Einzelzellen von Nitella zeigen, daß ionisierende Strahlen generell imstande sind, Potentialdifferenzen an Membranen pflanzlicher Zellen zu beeinflussen.

Da sich mit geeigneten Hilfsmitteln auch zwei Glasmikroelektroden in eine Einzelzelle von Nitella flexilis aus der Familie der Characeen einführen lassen und die elektrischen Eigenschaften dieser Süßwasseralge, die seit über 100 Jahren ein beliebtes Objekt der Reizphysiologie ist (DUTROCHET, 1837), durch zahlreiche Arbeiten seit den Anfängen der Elektrophysiologie hinreichend bekannt sind und da sie zu allen Jahreszeiten in ausreichender Menge zur Verfügung steht, regten diese Ergebnisse eine direkte Messung des Membranwiderstandes unter Bestrahlung an. Gleichzeitig wurden methodische Grundlagen für die Messung strahleninduzierter Permeabilitätsstörungen an tierischen Zellen ausgearbeitet.

II. Elektrophysiologische Grundlagen

1'. Membranpotential

Das Ruhepotential von Einzelzellen der Characeen, genauer gesagt, die Potentialdifferenz zwischen Zellvakuole und äußerem Medium, war Gegenstand zahlreicher elektrophysiologischer Untersuchungen. In einigen früheren Arbeiten (OSTERHOUT and HARRIS, 1928, 1929; OSTERHOUT, 1930; OSTERHOUT and HILL, 1940) wurden Messungen der Potentialdifferenz zwischen zwei verschiedenen Flüssigkeitskontakten auf der Zelloberfläche durchgeführt. UMRATH (1930, 1934), STUDENER (1947) und WALKER (1955) führten intrazelluläre Ableitungen durch. WALKER zeigte, daß das Ruhemembranpotential zwischen äußerem Medium und Zytoplasma am Plasmalemma entsteht, während er zwischen Zytoplasma und Vakuole am Tonoplasten keinen meßbaren Potentialunterschied finden konnte. Das Ruhepotential wurde verschiedenen Mechanismen zugeschrieben, unter anderem

a) einem Diffusionspotential in einer oder in mehreren Grenzschichten, die Phasen verschiedener Ionenkonzentration

trennen (OSTERHOUT, 1952);

b) einem Redoxpotential in einer Schicht (Membran), die "Elektronenleitung" erlaubt und zwei Phasen verschiedenen Redoxpotentials trennt (LUND, 1947);

c) einer Membran, die orientierte Dipole enthält (UMRATH, 1942);

d) einer Donnan-Verteilung, entsprechend dem Vorhandensein indiffusibler Ionen im Zytoplasma (BLINKS, 1940; HOPE and ROBERTSON, 1953).

BLINKS and PICKETT (1940/41) fanden experimentell Einwände gegen einen Redoxmechanismus, und nach HOPE and WALKER (1961) besteht weder theoretisch noch experimentell eine Berechtigung für die Annahme orientierter Dipole in der Zellmembran. Weiterhin erscheint es unmöglich, daß die Donnan-Verteilung allein für die verschiedenen Wirkungen von Natrium und Kalium auf das Ruhepotential verantwortlich ist; sie kann jedoch zusammen mit dem Diffusionspotential nach OSTERHOUT eine Rolle spielen.

In einem System zweier Phasen, die nur einwertige Ionen enthalten und durch eine nur kationenpermeable Membran getrennt sind, gilt unter bestimmten Voraussetzungen folgende Gleichung in Strenge (HODGKIN and KATZ, 1949 b):

$$(1) \quad E_{i,a}^{\rightarrow} = (RT/F) \cdot \ln\{(\Sigma_j^+ P_j \cdot {}_a\alpha_j)/(\Sigma_j^+ P_j \cdot {}_i\alpha_j)\},$$

$$= (RT/F) \cdot \ln(C_a^+/C_i^+),$$

worin $E_{i,a}^{\rightarrow}$ = Membranpotentialdifferenz = $E_i - E_a$

R = universelle Gaskonstante

F = Faradaysche Konstante

T = absolute Temperatur °K

P_i = Permeabilität der Membran für das j-te Ion

${}_{i,a}\alpha_j$ = Aktivität des j-ten Ions in der inneren bzw. äußeren Phase

und $$C^{+}_{i,a} = \Sigma^{+}_{j} P_{j} \cdot i,a \alpha_{j}.$$

Angesetzte + oder - zeigen an, daß die Summation nur über Kationen bzw. Anionen zulässig ist.

Unter Verwendung von Konzentrationen statt Aktivitäten und bei Vernachlässigung der Permeabilitätskoeffizienten aller Ionen außer Kalium und Natrium kamen HOPE and WALKER (1961) zu folgender Gleichung, die bei Chara australis eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Ergebnissen zeigte:

(2) $$E_{i,a}^{\rightarrow} = (RT/F) \cdot \ln\{(K_a + \beta \cdot Na_a)/(K_i + \beta \cdot Na_i)\},$$

worin ß (= P_{Na} / P_K) das Verhältnis der Permeabilität von Kalium und Natrium im Raum zwischen i (innen) und a (außen) und $Na_{i,a}$; $K_{i,a}$ die Konzentrationen der Kationen in den jeweiligen Phasen sind.

Eine wesentliche Abweichung von obiger Formel fanden diese Autoren gelegentlich nur bei höheren Werten von $E_{i,a}^{\rightarrow}$ (d.h. bei kleineren absoluten Beträgen $E_{i,a}^{\rightarrow}$ |), die durch höhere Außenkonzentrationen von Kalium erreicht werden, indem sich eine höhere Chloridpermeabilität einstellt. Dies stimmt außerdem mit den Ergebnissen von GAFFEY and MULLINS (1958) und MULLINS (1962) überein (siehe Aktionspotential).

Eine gemeinsame Erfassung der Wirkungen von Anionen und Kationen auf das Ruhepotential ist unter der Annahme eines konstanten elektrischen Feldes in der Membran mit der Gleichung nach GOLDMAN (1943) möglich:

(3) $$E_{i,a}^{\rightarrow} = (RT/F) \cdot \ln\{(C^{+}_{a} + C^{-}_{i})/(C^{+}_{i} + C^{-}_{a})\},$$

oder bei alleiniger Berücksichtigung von Chlorid-, Kalium- und Natriumionen unter Verwendung von Konzentrationen statt Aktivitäten:

$$(4) \qquad E_{i,a} = (RT/F) \cdot \ln\{(P_K K_a + P_{Na} Na_a + P_{Cl} Cl_i)/(P_K K_i + P_{Na} Na_i + P_{Cl} Cl_a)\}.$$

2. Membranwiderstand

Die ersten Messungen des Membranwiderstandes bei Zellen von Nitella wurden von BLINKS (1930, 1936/37) mit Gleichstrom durchgeführt. Er fand einen Wert von 255 k Ω cm^2 für die salzfreie Zellwand und beobachtete, daß Kalium im Außenmedium den Widerstand mehr als Natrium, Lithium und andere Ionen herabsetzte. CURTIS and COLE (1937) und COLE and CURTIS (1938) untersuchten den transversalen Widerstand während des Aktionspotentials und beobachteten dabei eine nur 15%ige Abnahme der Membrankapazität vom Ausgangswert 0.9 μF, aber ein Absinken des Widerstandes von 10^5 Ωcm^2 auf 500 Ωcm^2. Mit den qualitativen Eigenschaften des elektrischen Widerstandes beschäftigten sich UMRATH (1940), WEIDMANN (1949) und TEORELL (1958, 1961). Erste Messungen mit Mikroelektroden führten UMRATH (1940) und BENNETT and RIDEAL (1954) durch. WALKER (1957, 1960) zeigte, daß bei Nitella nahezu ausschließlich das Plasmalemma für den Membranwiderstand verantwortlich ist. Quantitative Angaben über den Membranwiderstand finden sich bei FINDLAY (1959) mit 50 k Ωcm^2 und bei WALKER (1960) mit 5 kΩ cm^2- wobei letztere Angabe für eine konzentriertere Außenlösung gilt. HOPE and WALKER (1961) versuchten eine mathematische Erfassung des Membranwiderstandes.

OSTERHOUT (1916) beschrieb die Einwirkung von Chloroform, Äther und Alkohol auf den Gewebewiderstand von *Laminaria saccharina*. Untersuchungen der Wirkung von Chloroform auf die Leitfähigkeit des Gewebes von Äpfeln und Spargel liegen von PAECH (1940) vor. Die Studien zeigen, daß diese Narkotika bis zu einer bestimmten Konzentration zu einem Anstieg des Wiederstandes führen, dem dann bei noch höherer Konzentration ein rascher, irreversibler Abfall folgt.

3. Aktionspotential

Das Aktionspotential ist eine reversible Depolarisation der Zelle nach Reizeinwirkung. Bei den Characeen wurden seine Amplitude und seine Verlaufsform von OSTERHOUT (1955), UMRATH (1956), GAFFEY and MULLINS (1958) und FINDLAY (1959, 1961, 1962) beschrieben. Das Aktionspotential von Nitella ähnelt in der Form dem des Nervenaxons, das durch einen rapiden Anstieg der Natrium- und einen langsameren Anstieg der Kaliumpermeabilität charakterisiert ist (HODGKIN and HUXLEY, 1952), dauert aber etwa 1000mal länger als bei motorischen Nervenfasern von Warmblütern. Nach GAFFEY and MULLINS wird das Aktionspotential durch einen Chloridausstrom eingeleitet, der dem Natriumeinstrom beim Nerven entspricht. HOPE and WALKER wiesen außerdem eine erhöhte Chloridpermeabilität bei depolarisierten Membranen nach. Einige andere Autoren (FINDLAY; HOPE, 1961) postulierten eine Einleitung des Aktionspotentials durch Calciumeinstrom; doch lassen sich diese Ergebnisse auch mit veränderten Membraneigenschaften bei erhöhter Calciumkonzentration erklären (FRANKENHAEUSER and HODGKIN, 1957). SPYROPOULOS et al. (1961) hielten den Befunden von GAFFEY and MULLINS entgegen, daß sie keinen Efflux von Cl^{36} während mehrerer Aktionspotentiale bei Chara feststellen konnten. MULLINS (1962) wies aber nach, daß die verwendeten Aktivitäten für die Messung der Permeabilitätserhöhung von Chlor zu gering waren. GAFFEY and MULLINS nehmen an, daß die Repolarisation beim Aktionspotential durch einen vergrößerten Kaliumeinstrom erfolgt. Sie stellten fest, daß zur Aufrechterhaltung der Reizbarkeit über eine Zeit von etwa 12 Stunden im Außenmedium keinerlei Ionen, bei noch länger dauernden Versuchen nur Chlorionen in niedrigen Konzentrationen erforderlich sind.

III. Material und Methoden

Verwendet wurden ca. hundert 0,5 bis 1,5 cm lange Zellen von Nitella flexilis (aus dem Botanischen Institut der Universität München) mit einem Durchmesser von ca. 0,3 cm. Die Zellkulturen wurden in abgestandenem Leitungswasser gehalten. Die Präparation eines Internodiums, das eine einzige Zelle darstellt, erfolgte unter größtmöglicher Schonung der benachbarten Zellen. Länge und Umfang der Zellen wurden jeweils nach Versuchsende gemessen. Die präparierten Zellen wurden in eine aus drei Objektträgern zusammengesetzte Rinne gebracht, in der zur Erleichterung des Elektrodeneinstiches und zur Ruhigstellung der Zelle in der Spülflüssigkeit kleine Polystyrolbacken (P) mit Araldit eingeklebt waren (siehe Abbildung 1, Seite 15). Gespült wurde mit einer Lösung nach FINDLAY (1964) bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 1 cm^3 in ca. 1 Minute. Die Temperatur konnte zwischen 15 und 30° C variiert werden. Sie wurde in dieser Rinne mit einem NTC-Widerstand (R_T) und einer Meßbrücke (TM) laufend auf mindestens 0,5° C genau gemessen.

Beleuchtet wurde mit einer Monlalampe LEITZ und mit einigen Kaltlichtröhren. Als Beleuchtungsstärke wurden in der Rinne bei gleicher Anordnung wie bei ESCH et al. (1964) ca. 20 000 Lux gemessen. Das Membranpotential zeigt, wie ESCH et al. bereits festgestellt hatten, eine ausgesprochene Abhängigkeit von der Intensität der Beleuchtung. Die im Dunkeln während Bestrahlung zu beobachtende Chemilumineszenz der Objektträger, die von HÖFERT (1964) beschrieben wurde, konnte bei dieser Beleuchtungsstärke unberücksichtigt bleiben.

Die intrazelluläre Spannungsmessung erfolgte über einen batteriegespeisten Kathodenfolger (KF) nach BURKHARDT (1959) mit $10^9\Omega$ Eingangswiderstand an einem TEKTRONIX 502-Zweistrahloszillographen mit Registrierausgang. Die Ableitung aus der Zelle und die Zuführung des eingeprägten Stromes (TYLER et

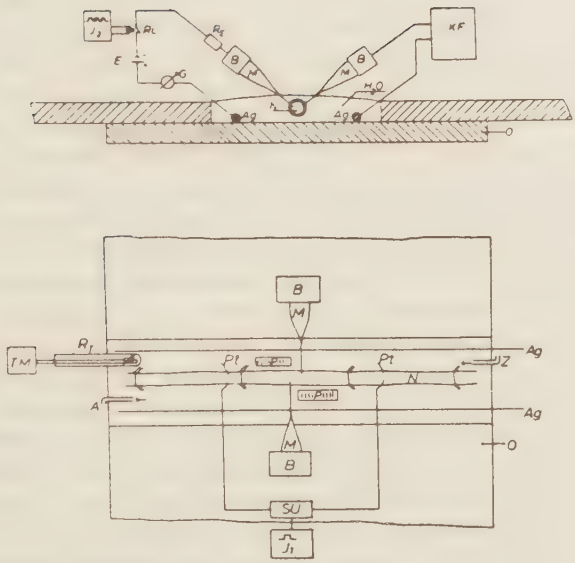

Abbildung 1

Erklärung im Text (Seite 14, 15 und 16).
Oben: Seitenriß, Mitte: Aufsicht, Unten: Blockschaltbild

al., 1956) erfolgten mit Glasmikroelektroden (M) von 5 - 10µ Spitzendurchmesser, die mit 3-molarer KCl-Lösung gefüllt waren. Trotz der dadurch denkbaren Erhöhung der intrazellulären Kaliumkonzentration wurde die Spannung an der Zellmembran durch Diffusion aus den Elektroden nicht verändert. Bei Verwendung einer 0.2-molaren KCl-Elektrode bewirkte der zusätzliche Einstich einer 3-molaren KCl-Elektrode weder sofort noch innerhalb der nächsten 10 Minuten eine sichtbare Veränderung der Membranspannung. Der von ESCH et al. und WALKER (1955) beobachtete Anstieg der Spannung innerhalb der ersten Minuten nach dem Einstich kann auf einer Erholung des Potentials nach einer stärkeren Verletzung der Zelle oder auf Veränderungen in der spannungsmessenden Elektrodenspitze beruhen. Eine analoge Spannungsänderung kann beim Herausziehen einer niedermolaren KCl-Elektrode aus der Zelle beobachtet werden, wenn die Elektrodenspitze nach dem Herausziehen aus der Zelle in die umgebende Flüssigkeit getaucht bleibt. Die Verbindung der Mikroelektroden zum hochohmigen Eingang des Kathodenfolgers bzw. zum Widerstand für den eingeprägten Strom wurde über Agar-Agar-Brücken und Ag-AgCl-Elektroden (B) hergestellt. Ag-AgCl-Drähte (Ag) lagen auch als indifferente Elektroden für Spannungsregistrierung und Stromzuführung in der Rinne neben der Zelle. Als Spannungsquelle für den eingeprägten Strom diente eine DEAC-Rundzellenbatterie (E), die über einen Vorwiderstand (R_E) von ca. 100 MΩ , ein SEL-Herkonrelais (RL) und ein Kontrollgalvanometer (G) an der Zellmembran jede Sekunde annähernd rechteckige Hyperpolarisationsstöße von 5 - 25 mV mit einer Dauer von 0.5 Sekunden an der Zellmembran bewirkte. Die Stromstärke des eingeprägten Stromes betrug etwa 6×10^{-8} A, entsprechend einem mittleren Nettoionenstrom von ca. 3×10^{-13} equiv.sec.$^{-1}$ bei Impulsbetrieb. Durch den physiologischen Ionenstrom in der gleichen Größenordnung von 10^{-11} equiv.cm^{-2} sec^{-1} (BARR and BROYER, 1964; MULLINS, 1962) konnte sich dadurch die Elektrolytzusammensetzung in der Zelle verändern, so daß vor den Messungen ein neues Gleich-

gewicht von Potential und Widerstand abgewartet werden mußte, das sich ca. 1 Stunde nach dem Elektrodeneinstich einstellte. Die folgenden Untersuchungen wurden an einer Zelle jeweils innerhalb eines Zeitraumes von ca. 10 Stunden durchgeführt. Wie auch WALKER (1955) feststellte, sind die elektrophysiologischen Eigenschaften bei Nitella unter diesen Versuchsbedingungen noch nach 8 Tagen unverändert.
Der Einstich der an einem Mikromanipulator (LEITZ) befestigten Elektroden in die Vakuole der Zelle unter optischer Führung durch ein Stereomikroskop konnte gleichzeitig am Schirmbild des Oszillographen (OSC) verfolgt werden. Elektrische Reizungen zur Auslösung von Aktionspotentialen wurden mit einem GRASS-Rechteckreizgerät (I) mit Stimulus Isolation Unit (SU) jeweils am Ende eines Hyperpolarisationsimpulses durchgeführt. Die erforderlichen Spannungsstöße von 20 - 110 V und 10/µ sec Dauer wurden zu einem Platinelektrodenpaar (Pt), auf dem die Zelle lag, geleitet. Zur Abschirmung stand der hochohmig gegen Erde liegende Teil der Meßapparatur in einem Faradaykäfig. Die Registrierung von Temperatur, Leitfähigkeit der Spüllösung, Widerstand und Potentialdifferenz erfolgte an einem Mehrkanaldirektschreiber (MK); die Potentialdifferenz wurde zusätzlich noch mit einem Kompensationsschreiber (KS) aufgezeichnet. Um eine Überlagerung der Widerstandsgröße durch langsame Potentialschwankungen zu vermeiden, erfolgte die Registrierung der Hyperpolarisationsimpulse durch einen Wechselspannungsvorverstärker (Zeitkonstante 160 msec).

Die Bestrahlungen erfolgten mit einem SIEMENS Dermopan-Röntgengerät, dessen Halbwellenbetrieb durch einen Kondensator geglättet war, und einer Berylliumfesterröhre bei einer Generatorspannung von 50 kV und einem Röhrenstrom von 18 mA mit oder ohne Filterung durch 0.3 mm Aluminium. Die Dosisleistung wurde durch Änderung des Fokus-Objekt-Abstandes variiert. Die ungefilterte Strahlung hat, wie Absorptionsmessungen ergaben (siehe Anhang B, 1), eine mittlere Photonenenergie von 10 keV. Die Durchströmung wurde so gewählt, daß die Zelle von 0.1 -

0.5 mm Wasser bedeckt war.

Unter Berücksichtigung der absorbierenden Wasserschicht wurde die mittlere Dosis bzw. Dosisleistung im Bereich der Zelle berechnet; sie gilt mit einer Genauigkeit von ± 15 %. Bestrahlung der Elektroden in der Spüllösung führte zu Spannungsänderungen unter 5 mV. Der Gesamtfehler der Spannungsmessungen lag in Versuchen über 12 Stunden unter 25 mV. Messungen von Widerstand und Kontaktpotential der Elektroden, Nullpunkt und Abschwächungsfaktor des Kathodenfolgers wurden am Anfang und Ende eines jeden Versuches durchgeführt.

IV. Ergebnisse

1. Veränderungen des Ruhemembranpotentials.

Bestrahlungsversuche wurden nur an Zellen durchgeführt, bei denen das Ruhepotential zwischen 100 und 160 mV lag. Übereinstimmend mit ESCH et al. (1964) konnte festgestellt werden, daß eine genügend hohe Dosisleistung Schwankungen des Ruhepotentials auslöst. Verlauf und Amplitude variierten erheblich in Abhängigkeit von Dosis und Dosisleistung, bei wiederholten Bestrahlungen auch von der vorher applizierten Dosis. Ferner war die Ansprechbarkeit von Zelle zu Zelle verschieden. Deshalb sei zunächst ein charakteristischer Verlauf beschrieben, wie er bei einer erstmaligen Bestrahlung mit einer Dosis von 20 kR (Dosisleistung 20 kR/min) in nahezu allen Fällen beobachtet wurde (Abbildung 2, Seite 19). Es lassen sich dabei 2 Wellen der Depolarisation unterscheiden. Die erste Phase der Depolarisation setzt oft ohne registrierbare Verzögerung mit Beginn der Bestrahlung ein, spätestens aber nach 30 - 40 Sekunden. Nach 1 - 2 Minuten wird ein erstes Minimum des Potentials (in Strenge: des absoluten Betrages der Potentialdifferenz) erreicht, an das sich eine Repolarisation bis fast zum Ausgangswert anschließt. Eine zweite, zeitlich längere Phase imponiert durch eine noch

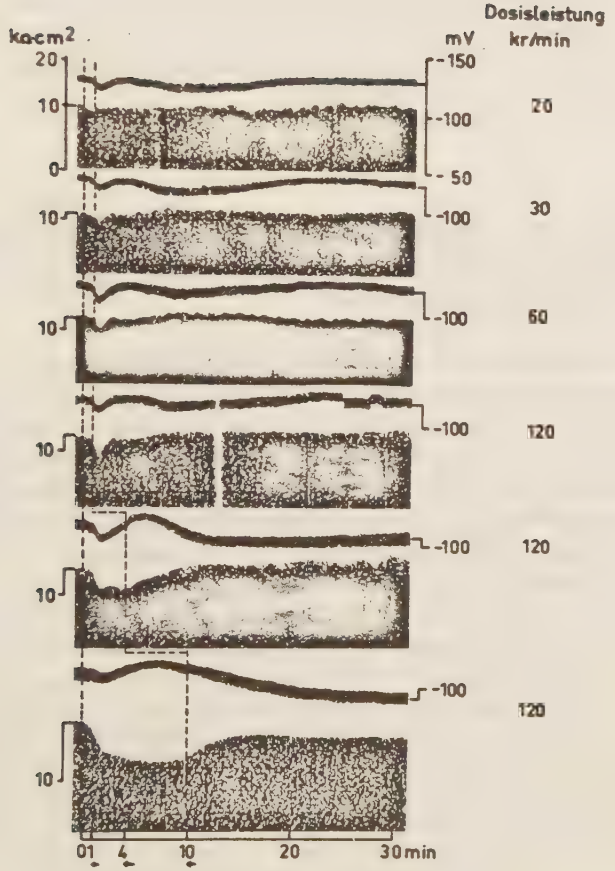

Abbildung 2

Beschr. S. 20 oben

(Versuch 24). Verlauf von Potential und Widerstand unter und nach Bestrahlung.
Die obere Kurve registriert das Potential in mV, der Oberrand des breiten Bandes den Widerstand in $k\Omega\,cm^2$. Die Bestrahlungsdauer ist durch eine gestrichelte senkrechte Linie angezeigt. (Außenlösung nach FINDLAY).

---

stärkere Depolarisation und endet nach 20 - 60 Minuten mit der Rückkehr zu einer neuen Ruhelage, gelegentlich in Form einer gedämpften Schwingung.

Die außerordentlichen individuellen Schwankungen in der Ansprechbarkeit auf ionisierende Strahlen und die Änderung der Ansprechbarkeit der Einzelzelle bei wiederholter Bestrahlung machten eine quantitative Analyse der Dosiswirkungsbeziehungen außerordentlich schwierig. Dennoch wurde versucht, eine Dosiswirkungsbeziehung zwischen der nach Bestrahlung erreichten maximalen Depolarisation und der anschließenden maximalen Repolarisation herzustellen.

Das obere Diagramm der Abbildung 3 gibt einen Eindruck von der Dosisabhängigkeit der maximalen Depolarisation im biphasischen Verlauf des Potentials auf eine Bestrahlung wieder. Bis zu 700 kR wurde keine Potentialerniedrigung auf weniger als 50% beobachtet.

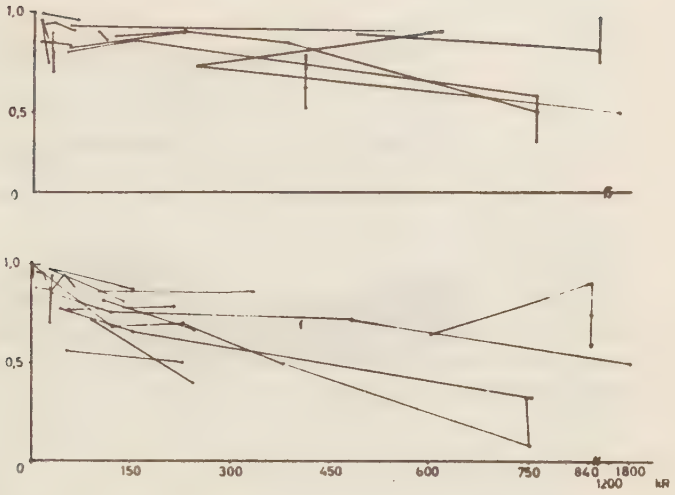

Abbildung 3

(Lösung nach FINDLAY). Die Meßwerte an einer einzelnen Zelle sind durch Gerade verbunden.
Oben: Größte nach Bestrahlung erreichte Depolarisation in Abhängigkeit von der Dosis, bezogen auf das gleich 1 gesetzte Potential vor Bestrahlung.
Unten: Größte Widerstandserniedrigung unter oder nach Bestrahlung. Widerstandswerte vor jeweiliger Bestrahlung gleich 1.

Nach wiederholten Bestrahlungen ist die erste Depolarisation abgeschwächt und der weitere Potentialverlauf im Sinne einer erhöhten Polarisation verschoben. Vereinzelt konnte dabei eine Hyperpolarisation beobachtet werden (Abbildung 3).

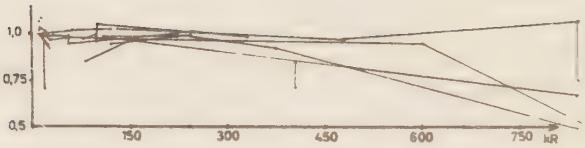

Abbildung 4

Abhängigkeit des Maximums der Repolarisation von der Strahlendosis. Die Meßwerte aus der Bestrahlung einer einzelnen Zelle sind jeweils durch Gerade verbunden.
Das Potential vor Bestrahlung ist gleich 1 gesetzt.

Bei sehr hohen Dosisleistungen ohne vorhergegangene Bestrahlung werden Aktionspotentiale ausgelöst (siehe Seite 32). Bei sehr hohen Dosisleistungen nach vorhergegangenen Bestrahlungen mit hohen Dosen kann die Repolarisation nach dem ersten Potentialminimum ausbleiben, so daß ein fließender Übergang in die zweite Phase folgt. Einen derartigen Verlauf zeigt Abbildung 4 mit einer noch geringen Stufe an Stelle eines ersten Minimums.

Die Depolarisationsgeschwindigkeit und der Umkehrpunkt der ersten Phase sind abhängig von der Dosisleistung, der Umkehrpunkt der zweiten Phase und die neue Ruhelage möglicherweise von der applizierten Dosis. Nach Dosen über 50 kR konnte bei einigen Zellen eine maximale vorübergehende Depolarisation bis zu 50% des Ausgangspotentials erreicht werden.

Ein Einfluß des Außenmediums auf die Strahlenreaktion des Ruhepotentials konnte bei Verwendung von Lösungen einzelner Salze, wie sie in der Vorschrift nach FINDLAY enthalten sind (50/umol/l

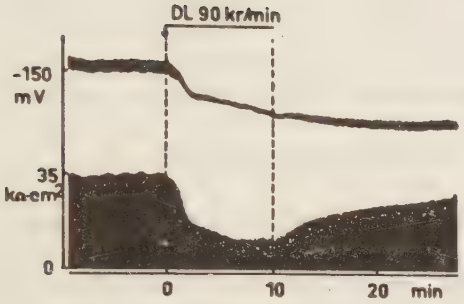

Abbildung 5

(Versuch 85). Verlauf von Potential und Widerstand.
Empfindliche Zelle, bereits vorbestrahlt.
(Lösung nach FINDLAY).

$CaCl_2$, 70/umol/l KCl, 625/umol/l NaCl, 500/umol/l $NaNO_3$ oder aqua dest.), nicht festgestellt werden. Als Beispiele sind Dosiswirkungskurven für die maximale Depolarisation in NaCl-Lösung wiedergegeben (Abbildung 6, Seite 25), die im Gegensatz zu anderen Versuchen eine größere Stabilität des Ruhemembranpotentials in einer chloridfreien Außenlösung andeuten können. Andererseits fiel bei Versuchen in $NaNO_3$-Außenlösung eine erhöhte Bereitschaft (Spontanaktivität) zur Auslösung von Aktionspotentialen auf.

Ein sehr großer Einfluß dieser verschiedenen Außenlösungen mit einer Konzentration unter 10^{-3} Osmol/l ist wegen der hohen Konzentration der Elektrolyte in Zellsaft und Zytoplasma von über 10^{-1} Osmol/l (GAFFEY and MULLINS, 1958; MULLINS, 1962) nicht zu erwarten. So können die verwendeten Außenlösungen mit nahezu ionenfreiem Wasser verglichen werden.

2. Veränderungen des Membranwiderstandes

Bei den vorliegenden Messungen des Widerstandes zwischen Zellinnerem und einer Außenlösung nach FINDLAY lagen bei den verhältnismäßig jungen Zellen die Werte im Bereich von 5 - 50 k Ωcm^2 . Bei Bestrahlung kommt es (siehe Abbildung 5, Seite 23) zunächst, wenn kein Aktionspotential ausgelöst wird, zu einer Erniedrigung des Widerstandes, die synchron (siehe auch Abbildung 2, Seite 19) mit der ersten Phase des Potentialabfalls beginnt und bei einer Bestrahlungsdauer bis zu 10 Minuten mit genügend hoher Dosisleistung ein Minimum erreicht. Spätestens 30 Sekunden nach Beendigung der Bestrahlung tritt gleichzeitig mit der Erhöhung des Potentials allmählich eine Zunahme des Widerstandes bis zum Ausgangswert und darüber ein. Ein auf diese Weise erhöhter Widerstand fällt später wieder auf das ursprüngliche Niveau ab. Nach dem gleichzeitigen Beginn der Erholung von Potential und Widerstand besteht bei den darauffolgenden Schwankungen keine Synchronisation mehr. Bei Fortdauer der Bestrahlung kann ebenfalls ein Maximum des Widerstandes mit geringerer Amplitude auftreten. Nach sehr hoher Dosis kann der Widerstand innerhalb von Sekunden auf wesentlich niedrigere Meßwerte abfallen. Dieses plötzliche Verschwinden des Membranwiderstandes, das nach einer Dosis von mehreren Millionen R auftrat, war mit einer kurzfristigen Schwankung des schon zuvor fast auf Null abgesunkenen Potentials und, ähnlich wie es SEN (1931) bei Aktionspotentialen nach elektrischer Reizung beobachtete, mit einer geringfügigen Leitfähigkeitserhöhung der Außenlösung verbunden.

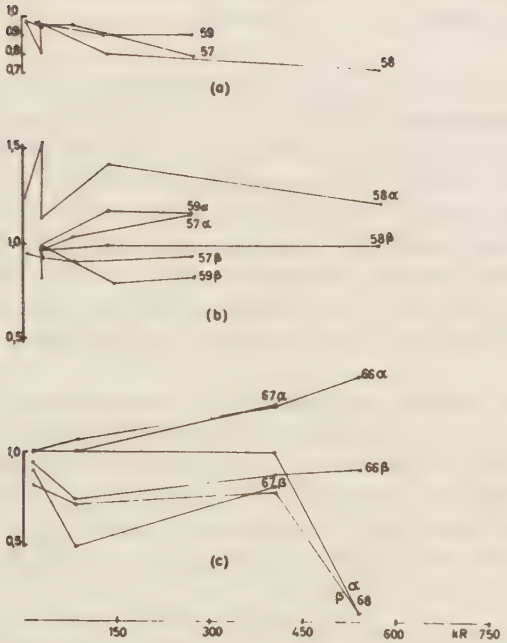

Abbildung 6

a) Lösung 650/µmol/l NaCl; sonst wie Abbildung 3 unten
b) Lösung 650/µmol/l NaCl
   α : Wie Abbildung 7
   ß : Wie Abbildung 3 unten
c) Lösung 600/µmol/l $NaNO_3$
   α : Wie Abbildung 7
   ß : Wie Abbildung 3 unten

Makroskopisch und mit 150facher Vergrößerung bei Auflicht konnten dabei außer einem Stillstand der Protoplasmaströmung keine auffälligen Veränderungen festgestellt werden.

Während kurzzeitger Unterbrechungen der Bestrahlung steigt der Widerstand zunächst schnell, mit zunehmender Dosis aber wieder langsamer an. Dies zeigt gleichzeitig, daß die Erholung des Widerstandes durch Bestrahlung unterdrückt wird. Die in einzelnen Versuchen aufgetretene unterschiedliche Empfindlichkeit kann eventuell auf jahreszeitlichen Schwankungen beruhen. Bei Zellen, die während der Bestrahlung einen geringen Widerstandseinbruch zeigten, war in der Erholungsphase allgemein ein wesentlich stärkeres Ansteigen des Widerstandes zu beobachten.

Bei Zellen, deren Widerstand durch eine Vorbestrahlung erhöht war, konnte durch eine zweite Bestrahlung gleicher Dosis und Dosisleistung ein stärkerer Widerstandseinbruch beobachtet werden. Bei kurzzeitiger Bestrahlung mit etwa 60 kR wurde ein Ansteigen des Widerstandes ohne Unterdrückung durch fortgesetzte Bestrahlung bis über das Doppelte des Ausgangswertes beobachtet (siehe Abbildung 7,Seite 27).

Nach etwa 1 Stunde ist das Ausgangsniveau wieder erreicht. Aus der Abbildung 3 unten (Seite 21) ergibt sich eine Depolarisation um nahezu 20 % nach einer Dosis von 60 kR. Um eine 50%ige Depolarisation zu erreichen, sind Dosen von über 450 kR notwendig. Die entsprechenden Werte für die Widerstandserhöhungen können bei niedrigeren Dosen liegen, sind aber wegen der größeren Streuung noch unsicherer (Abbildung 8, Seite 27).

Abbildung 7

(Versuch 43). Starke Widerstandszunahme nach einer Bestrahlung. (Darstellung der Registriermethode, Nullpunkt in der Mitte des Bandes).

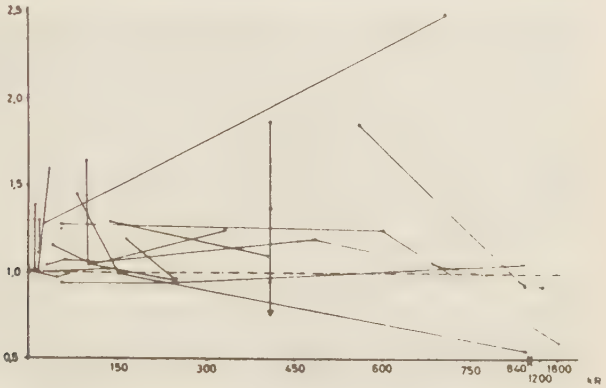

Abbildung 8

(Lösung nach FINDLAY). Höchste Widerstandswerte nach einer Bestrahlung in Abhängigkeit von der Dosis.
Widerstandswerte vor jeweiliger Bestrahlung gleich 1.
Meßwerte an einzelner Zelle durch Gerade verbunden.

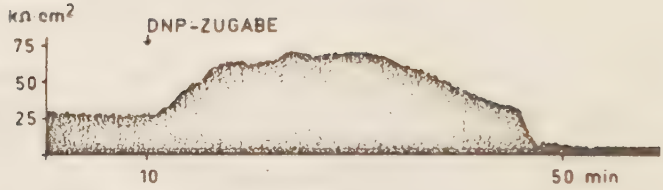

Abbildung 9

(Versuch 36). Wirkung der Zugabe von 2×10^{-4}mol/l DNP auf den Membranwiderstand.

Die Untersuchungen des Widerstandes in verschiedenen Außenmedien ergaben keine sehr wesentlichen Unterschiede gegenüber dem Verhalten in einer Lösung nach FINDLAY. Einzelne Kurven deuten lediglich die Möglichkeit eines Überwiegens der Widerstandszunahme nach Bestrahlung in NaCl-Lösung gegenüber einer größeren Widerstandsabnahme in $NaNO_3$-Lösung an (Abbildung 6b, c, Seite 25).

Zu der in der Diskussion noch einmal kurz behandelten Frage, ob die beobachteten Membranstörungen auf dem Umwege über eine Beeinflussung der energieliefernden Prozesse zustande kommen, wurden zwar keine systematischen Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Enzymhemmer angestellt, jedoch einzelne Versuche mit Dinitrophenol durchgeführt. Wie Bestrahlung, bewirkt auch die Zugabe von 2×10^{-4}mol/l Dinitrophenol zu der verwendeten Außenlösung eine vorübergehende Widerstandserhöhung in einem bei verschiedenen Zellen gut reproduzierbaren Verlauf (siehe Abbildung 9, Seite 28). Im Gegensatz zu den Widerstandserhöhungen auf Bestrahlung erfolgte am Beginn der

DNP-Wirkung keine Widerstandserniedrigung. Kurze Zeit nach dem Überschreiten des Maximums aber war kein Membranwiderstand mehr festzustellen. Durch Auswaschen des DNP nach dem Erreichen des maximalen reaktiven Widerstandes konnte der irreversible weitere Verlauf nicht mehr beeinflußt werden.

Im Beginn der Widerstandszunahme zeigte das Membranpotential nur eine geringe kurzfristige Hyperpolarisationsschwankung, nach der es zunächst auf das Niveau vor der DNP-Zugabe zurückkehrte. Vor dem allmählichen Widerstandsabfall begann die Depolarisation. Vor dem Beginn des rapiden Widerstandsabfalles blieb das Membranpotential vorübergehend etwa auf dem halben Wert des Ausgangspotentials stehen, um dann synchron mit dem Widerstand den Nullwert zu erreichen.

3. Fluktuation von Widerstand und Potential

Bei der kontinuierlichen Registrierung fielen in den meisten Versuchen vorübergehende periodische Schwankungen des Widerstandes um ca. 20% mit einer Dauer von 125 $\pm$ 70 sec (Standardabweichung - 48 Messungen) auf. Im allgemeinen nahmen diese Widerstandsschwankungen gegen Versuchsende ab; durch äußere Einflüsse, wie Bestrahlung, konnten sie jedoch erneut hervorgerufen werden. Dabei wurden auch Formänderungen dieser Schwingungen beobachtet. Durch sehr hohe Dosisleistungen konnten die entstandenen Schwankungen auch wieder unterdrückt werden.

Die Wirkung einer Bestrahlung auf die Schwankungen des Widerstandes äußert sich vorwiegend in einer Änderung der Schwankungsamplitude, gelegentlich auch in einer Frequenzänderung. Angedeutete Schwankungen überlagern auch den Anstieg des Widerstandes nach DNP-Zugabe (Abbildung 9, Seite 28).

Unabhängig von diesen Widerstandsschwankungen traten nach Dosen über 120 kR in einzelnen Versuchen noch eigenartige rhythmische Schwankungen des Ruhepotentials um 1 - 10 mV in Abständen von 24 ± 13 sec (Standardabweichung - 84 Messungen) auf.

4. Elektrisch ausgelöste Aktionspotentiale unter Bestrahlung.

Bei zahlreichen Zellen wurde nach elektrisch ausgelösten Aktionspotentialen im Verlauf der Repolarisation ein Einschwingen auf das Ruhepotential beobachtet. Besonders markant war dabei immer nach einer ersten Repolarisationszacke ein zweiter Anstieg zu mehr positiven Werten (im folgenden zweite Depolarisationsphase genannt) mit einem nachfolgenden Abfall (Abbildung 10 A, B, Seite 31). Anschließend kam es bei ungeschädigten Zellen zu höheren Werten des Membranruhepotentials, und erst nach ca. 30 Minuten wurde ein konstantes Niveau erreicht. Meine Untersuchungen der Strahlenwirkung auf die Form des Aktionspotentials bestätigen die Befunde von ESCH et al. insofern, als es zu einer Verlängerung der Dauer des ersten Teils der Repolarisationsphase, der als Plateau bezeichnet wurde, kommt, ohne daß in der Zeit zwischen Auslösung und Gipfel des Aktionspotentials irgendwelche Veränderungen zu registrieren wären. Allerdings müssen diese Ergebnisse auf Grund des jetzt vorliegenden Materials dahingehend ergänzt werden, daß vor diesen Veränderungen bei niedrigeren Dosen eine Abflachung des abfallenden Teils nach der zweiten Depolarisationsphase erfolgt, der schon ohne Bestrahlung allein auf häufige elektrische Reizung der Zelle, in gleicher Weise sehr empfindlich reagiert. Diese Abflachung kann so ausgeprägt sein, daß der abfallende Teil um Sekunden verzögert ist oder daß es nach 800 kR nur noch zu einem Anstieg, entsprechend einer Depolarisation, kommt (Abbildung 10 C, G, H). Eine geringe Schädigung durch 30 kR kann nach 10 Minuten bereits so ausgeglichen sein, daß das Aktionspotential wieder den normalen Verlauf hat (Abbildung 10 C, D). Mit zunehmender Dosis kommt es ab ca. 90 kR zu der er-

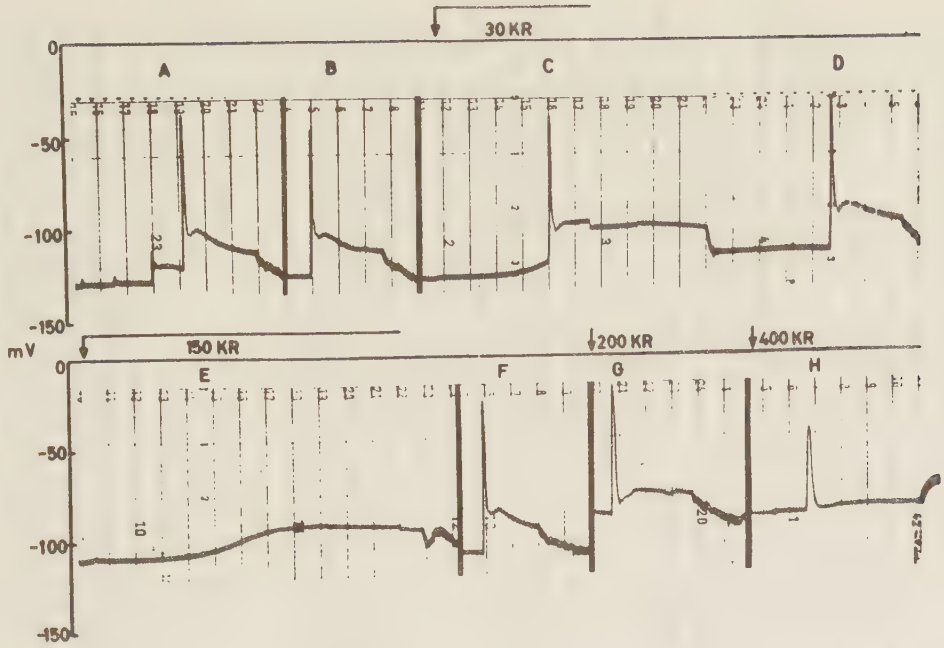

Abbildung 10

(Versuch 79). Veränderungen in der Form elektrisch ausgelöster Aktionspotentiale durch Bestrahlung. Ein Teilstrich entspricht bei der wellenförmigen Aufzeichnung der Potentialdifferenz 10 Sekunden, bei fetter Aufzeichnung 1 Minute. Weitere Erläuterungen im Text.

wähnten Verlängerung des Plateaus der Repolarisationsphase. Gleichzeitig kann die erste Repolarisationszacke durch das mehr positive Ausgangsniveau des Aktionspotentials als relativ zu mehr negativen Werten gesenkt erscheinen. Dies kann auch bei zu häufig ausgelösten Aktionspotentialen oder bei spontanen Aktionspotentialen kurz nach dem Elektrodeneinstich beobachtet werden. Bei noch höherer Gesamtdosis nimmt auch die Amplitude des Aktionspotentials ab, und das Plateau wird noch ausgeprägter verlängert. Die erste Repolarisationszacke kann sogar um wenige Millivolt über das Ausgangspotential hinausschießen. Auch die maximale Abfallsgeschwindigkeit wird verringert, ähnlich wie es UMRATH (1959) nach elektrischer Schädigung bei *Nitella mucronata* beobachtete. Aktionspotentiale sind in diesem Stadium nur noch mit elektrischen Reizen auslösbar, die den Ausgangswert um mehr als das Doppelte überschreiten (Abbildung 10 H). Nach Dosen über 2000 kR können keine Aktionspotentiale mehr ausgelöst werden. Außerdem zeigt jetzt der Erregungsablauf eine Reizabhängigkeit und folgt nicht mehr streng dem Alles-oder-Nichts-Gesetz. Der Ablauf der Widerstandsänderung während eines Aktionspotentials zeigt auch nach Bestrahlung keine signifikanten Unterschiede gegenüber vorher, außer einer Verlangsamung in der Phase der Widerstandszunahme gleichzeitig mit der verzögerten Repolarisation.

5. Strahleninduzierte Aktionspotentiale

Neben elektrischen, mechanischen, osmotischen, chemischen und thermischen Reizen und neben einer Erhöhung der Beleuchtungsintensität kann auch Röntgenstrahlung die Auslösung von Aktionspotentialen bewirken. Diese Beobachtung wurde von HUG und MILTENBURGER (1962) und von HUG et al. (1964) an Mimosen und von ESCH, MILTENBURGER und HUG (1964) an Nitella erstmalig beschrieben. Im Gegensatz dazu berichtete GAFFEY (1964), daß es unmöglich sei, mit hochenergetischen Alphateilchen Aktionspotentiale in Internodialzellen von Ni-

tella auszulösen. Der Autor macht allerdings keine Angabe über die verwendete Dosisleistung. Unter Erstbestrahlung mit einer Dosisleistung von 30 kR/min konnte in einer Versuchsreihe im Herbst 1964 bei der Mehrzahl von insgesamt 11 Zellen ein Aktionspotential ausgelöst werden. Die 4fache Dosisleistung führte bei jeder Zelle zu einem Aktionspotential, wenn nicht zuvor einzelne Bestrahlungen mit geringerer Dosis oder Dosisleistung durchgeführt worden waren. Diese Tatsache macht es verständlich, daß bei Orientierungsmessungen mit allmählich gesteigerter Dosis und Dosisleistung keine strahleninduzierten Aktionspotentiale beobachtet werden konnten. Nach Bestrahlungsbeginn wird bei genügend hoher Dosisleistung das Membranpotential allmählich um 10 mV (siehe Abbildung 10 E, Seite 31) bis 30 mV (Abbildung 11, Seite 34) positiver. Nach 30 bis 60 Sekunden setzt plötzlich die steile Depolarisationsflanke ein. Eine zu geringe Dosisleistung führt nach dieser Zeit zu einer Erholung des Membranpotentials bis fast zum Ausgangswert (siehe IV, 1: Veränderungen des Ruhemembranpotentials). Ein Zusammenhang zwischen der Steilheit der Depolarisation in der einleitenden Phase und der Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Aktionspotentials konnte nicht nachgewiesen werden. Eine zweite Bestrahlung bei gleicher Dosisleistung bewirkt eine geringere und langsamere Potentialänderung; andererseits muß eine zweite Bestrahlung mit erhöhter Dosisleistung trotz eventueller größerer und schnellerer Potentialänderung kein weiteres Aktionspotential auslösen (Abbildung 10 E, Seite 31). Jedoch konnte die Dosisleistung nicht über 120 kR/min gesteigert werden.

Die Form strahleninduzierter Aktionspotentiale ist, abgesehen von einer geringfügigen Abflachung des Abfalls am Ende der zweiten Repolarisationsphase, die gleiche wie beim elektrisch ausgelösten. Diese Abflachung wurde bereits bei den Formänderungen des Aktionspotentials auf Bestrahlung (siehe Seite 30) beschrieben. Die Differenz von Ausgangspotential bei Bestrahlungsbeginn und erster Repolarisationszacke ist annähernd konstant und vor allem unabhängig von der Höhe des initialen

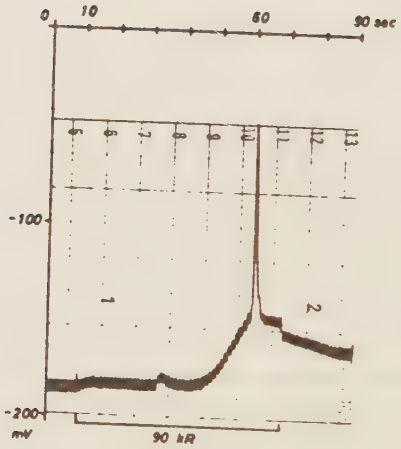

Abbildung 11

(Versuch 76). Strahleninduziertes Aktionspotential.

Anstieges, der im Verhältnis zu der maximalen Potentialänderung während des Aktionspotentials viel langsamer verläuft.

(Das hier ebenfalls beobachtete relative Abfallen der ersten Repolarisationszacke scheint auf dem bereits beschriebenen zu geringen Intervall zwischen einzelnen Aktionspotentialen und da-

mit auf einer unvollständigen Erholung zu beruhen.)

Auch das Verhalten des Membranwiderstandes läßt, soweit die zeitliche Auflösung der Messung eine Beurteilung erlaubt, keine Unterschiede gegenüber dem bei elektrisch ausgelösten Aktionspotentialen erkennen. In der Zeit des langsamen initialen Potentialanstieges bis zur steilen Depolarisationsphase war der gemessene Widerstand weitgehend konstant. Er schwankte in dieser Phase unabhängig von der Steilheit des Anstieges um $\pm$ 5%. Unabhängig von der Art der Auslösung ist der Widerstand etwa 1 Minute nach dem Aktionspotential um ca. 10% erhöht.

6. Reizschwellenversuche

Während die Wirkung von Röntgenstrahlen auf das Potential bei wiederholter Applikation abnimmt, wird die Empfindlichkeit der Zelle gegenüber elektrischen Reizen durch Bestrahlung erhöht. Diese Erniedrigung der Reizschwelle scheint bei Zellen, die eine vorübergehende hohe Spontanaktivität nach dem Elektrodeneinstich zeigten, weniger ausgeprägt zu sein. In keinem Versuch jedoch war die Reizschwelle kurz nach Bestrahlung mit ca. 60 kR erhöht. Diese Beobachtung ist unabhängig davon, ob durch die Bestrahlung ein Aktionspotential ausgelöst wurde oder nicht (Abbildung 12, Seite 36).

Bei einer Reizgrößenbestimmung wurden Spannungsstöße in Abständen von 10 - 15 Sekunden in Stufen von jeweils 10 V ausgelöst. Bei der Einzeichnung des Kurvenverlaufs wurde berücksichtigt, daß eine größere Anzahl unterschwelliger Reize die Schwelle zur Aktionspotentialauslösung erhöht. Dieser Einfluß ist nach höheren Dosen infolge einer verminderten Erholungsfähigkeit noch verstärkt. Bei 1500 kR steigt die Reizschwelle wieder auf höhere Werte an.

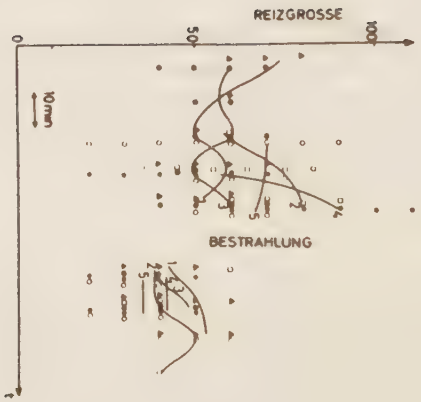

Abbildung 12

Reizgröße-Zeit-Diagramm. Die zeitliche Aufeinanderfolge der stufenweise ansteigenden Spannungsstöße einer einzelnen Reizgrößenmessung ist im Diagramm nicht berücksichtigt.

7. Temperaturkoeffizienten des Ruhepotentials, des Membranwiderstandes und des Aktionspotentials sowie ihre Beeinflussung durch Bestrahlung.

Bei einigen Versuchen wurde auch die Temperaturabhängigkeit des Membranwiderstandes im Bereich von 15 - 30° C untersucht und ein Temperaturkoeffizient Q_{10} für die Leitfähigkeit von 1.54 $\pm$ 0.03 (Standardabweichung des Mittelwertes) aus 15 Messungen im Herbst, bzw. einer Versuchsreihe im Frühjahr von 2.23 $\pm$ 0.1 aus 10 Messungen ermittelt (Tabelle Seite 38). Es konnten Temperaturänderungen von 10° C in 4 Minuten erreicht werden. Bei schnelleren oder auch bei größeren Temperaturänderungen wurden, ebenso wie in Untersuchungen von UMRATH (1934), Aktionspotentiale ausgelöst. DUTROCHET beschrieb 1837 bereits einen Stillstand der Plasmaströmung bei starken Temperaturänderungen. HÖRMANN (1898) hat einen Strömungsstillstand lediglich bei Temperaturabnahme beobachtet. Durch die gleichzeitige Leitfähigkeitsmessung der abtropfenden Flüssigkeit wurde sichergestellt, daß keine stärkere Verdunstung erfolgte, die bei höherer Temperatur zu einer Konzentrierung der Spüllösung und damit von sich aus zu einer Veränderung des Membranwiderstandes führen könnte. Eine Kondenswasserbildung bei Abkühlung war bei der geringen Luftfeuchtigkeit nicht zu erwarten. Der Berechnung des Temperaturkoeffizienten liegt die RGT-Regel nach van't HOFF (1901) zugrunde, die sich wie folgt darstellen läßt:

(5) $$\ln Q_{10} = \frac{10}{T_1 - T_2} \ln \frac{X_1}{X_2}$$

Amplitude des AP mV	110	85	105	105	110	95	125	110
Zeit zwischen 1/2 Amplitude des AP bis zu gleichem Potential der Repolarisationsphase. sec	3,5	11,0	4,5	9,5	3,5	6,5	5,5	3,5
Temperaturdifferenz gegenüber vorher ausgelöstem AP [°C]	-3,4	+3,1	-2,9	+1,85	-2,2		+3,75	
daraus berechnetes Q_{10} des Aktionspotentials	28	17	14	14,5	15	xx)	3,3	
gleichzeitig gemessenes Q_{10} der Leitfähigkeit, Mittel aus 2 Messungen	2,4	2,6	2,2	2,2 x)	3,1		1,2	

Hinweise auf Seite 39 oben

x) Nur 1 Messung

xx) Vor den beiden letzten Aktionspotentialen liegen einige Temperaturwechsel ohne Auslösung von Aktionspotentialen. Außerdem wurde in diesem Zeitraum in jeweils 5 Minuten eine Dosis von 150 und 350 kR appliziert.

Dabei sind X_1 und X_2 die bei der Temperatur T_1 und T_2 bestimmten Ionengeschwindigkeiten. Bei der Übertragung dieses reaktionskinetischen Verhaltens auf die Widerstandsabhängigkeit von der Temperatur ergeben sich der gleiche geradlinige Verlauf im halblogarithmischen Maßstab und ein Temperaturkoeffizient >1, wenn berücksichtigt wird, daß die Leitfähigkeit $\frac{1}{R}$ mit steigender Temperatur zunimmt:

$$\ln Q_{10} = \frac{10}{T_1 - T_2} \ln \frac{R_2}{R_1} \qquad (6)$$

Durch Bestrahlungen mit einer Dosis von ca. 30 kR, die in ca. 1 Minute appliziert werden, wird eine Verringerung des Temperaturkoeffizienten erzielt. Abbildung 13 (Seite 40) zeigt das allmähliche Absinken des Temperaturkoeffizienten bis fast auf 1 (Legende zu Abbildung 14, Seite 41). Auch bei diesen Versuchen konnte die Bestrahlung nicht mit den höchsten angewandten Dosisleistungen begonnen werden, da durch sie Aktionspotentiale ausgelöst wurden, nach denen ein über dem Ausgangsniveau liegender Temperaturkoeffizient gemessen wurde.

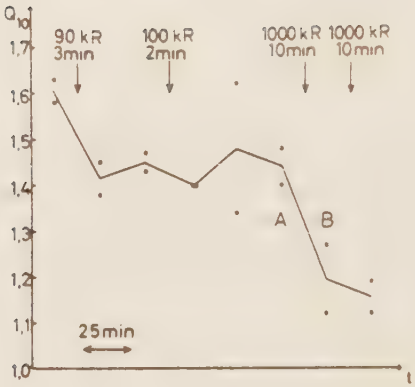

Abbildung 13

(Versuch 85). Temperaturkoeffizient-Zeit-Diagramm des Widerstandes (siehe Seite 39)

Bei der gleichen Versuchsreihe, die ein Q_{10} der Leitfähigkeit von 2.23 ergab, wurde auch die Temperaturabhängigkeit des Aktionspotentials untersucht. Als Vergleichswert diente hier die reziproke Zeitspanne zwischen beiden Überschreitungen der halben Amplitude des Aktionspotentials. Die Messungen ergaben ein Absinken des Wertes für Q_{10} während der Versuchsdauer auf etwa die Hälfte und einen Mittelwert von 17.7 $\pm$ 2.6 (Standardabweichung des Mittelwertes aus 5 Messungen). UMRATH (1934)

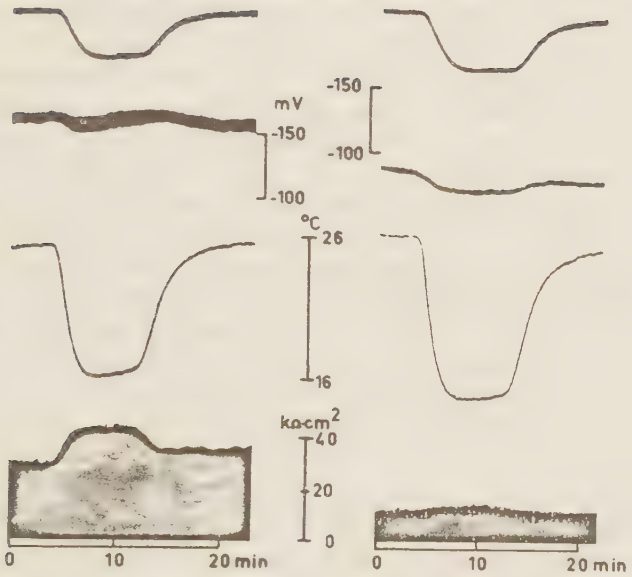

Abbildung 14

(Versuch 85). Abhängigkeit von Potential und Widerstand von der Temperatur vor und nach Bestrahlung.
Die Originalkurven zeigen von oben nach unten den Verlauf der Leitfähigkeit der Spüllösung, die Potentialdifferenz an der Zellmembran, die Temperatur in der Spüllösung neben der Zelle und den Membranwiderstand. Zwischen den beiden Temperaturwechseln (zum Zeitpunkt A und B in Abbildung 13) liegt eine erste Bestrahlung, die in Abbildung 4 gezeigt wurde, und eine zweite, ebenfalls mit 90 kR, bei der nach der Widerstandserniedrigung keine Erholung mehr erfolgte.

fand dagegen für Nitella mucronata ein Q_{10} von 2.3 für die reziproke Dauer der Depolarisationsphase des Aktionspotentials. MEVES (1963) berechnete für die reziproke Dauer der Repolarisationsphase bei motorischen Nervenfasern von Rana esculenta ein Q_{10} von 2.9, TASAKI and FUJITA (1948) fanden für die Dauer des Aktionsstromes der markhaltigen Nervenfaser ein Q_{10} von 3 - 3.5. HODGKIN and KATZ (1949 a) gaben für die maximale Steilheit der Potentialänderung $\frac{dV}{dt}$ in der Repolarisationsphase am Tintenfischaxon bei 5 und 10° C Werte von 39 bzw. 91 $Vsec^{-1}$ an, entsprechend einem Q_{10} von 5.3 (berechnet), das gleichzeitig wieder mit der Temperaturabhängigkeit der reziproken Dauer der Repolarisationsphase in diesem Bereich übereinstimmt. Die bei Nitella flexilis gefundenen maximalen Repolarisationsgeschwindigkeiten von 6 - 60 $mVsec^{-1}$ für etwa 3° C Temperaturdifferenz ergaben ungleich höhere Werte, konnten aber wegen der Streuung nur unsicher gewertet werden.

In den durchgeführten Versuchen zeigte die Höhe des Aktionspotentials bei Nitella flexilis keine signifikante Veränderung in Abhängigkeit von der Temperatur (siehe Tabelle Seite 38). MEVES beobachtete bei den oben angeführten Versuchen nach Abkühlung von Zimmertemperatur auf 4° C in 18 Versuchen eine Vergrößerung, in 6 Fällen eine Verkleinerung der Amplitude. Auch TASAKI and FRANK (1955) fanden keine signifikante Veränderung zwischen 25 und 14° C.

Eine Dosis von 500 kR bewirkte einen Abfall des hohen Q_{10} des Aktionspotentials von ca. 15 kurz vor Bestrahlung auf 3.3 danach (siehe Tabelle Seite 38).

Als weitere Größe, deren Abhängigkeit von der Temperatur untersucht wurde, sei noch das Ruhemembranpotential erwähnt. Im Gegensatz zu UMRATH (1934), der generell eine mit steigender Temperatur zunehmende Potentialdifferenz beschrieb, war in den meisten Versuchen kein signifikanter Temperatureinfluß zu erkennen, wenn auch in einzelnen Versuchen bei Abkühlung um 10° C eine Verminderung der Potentialdifferenz um maximal 25% festgestellt wurde. Bestrahlung hatte auf dieses Verhalten keinen Einfluß. Die geringe Abhängigkeit des Ruhepotentials von der Temperatur steht in Einklang mit den Ergebnissen von HODGKIN and KATZ, die diesen Befund damit erklärten, daß der Temperaturkoeffizient der Natriumpermeabilität höher sei als der Temperaturkoeffizient der Wanderungsgeschwindigkeit für Kalium und Chlor.

V. Diskussion

1. Vergleich der Versuchsergebnisse mit den Arbeiten anderer Autoren.

Bei Röntgenbestrahlung von *Nitella flexilis* mit Dosisleistungen von 6 bis 120 kR/min und Dosen von etwa 20 kR und mehr wurden deutliche Veränderungen des Membranpotentials und des Membranwiderstandes beobachtet. Das Membranpotential zeigt bei Bestrahlung meist eine erste Depolarisationsphase von wenigen Minuten Dauer und eine zweite von bis zu einer Stunde, an deren jeweiligem Ende das ursprüngliche Niveau ungefähr wieder erreicht wird. Der Widerstand fällt synchron mit der ersten Depolarisation ab und erreicht nach Durchlaufen eines Minimums allmählich einen stationären Wert, der dem Ausgangswert entsprechen, oft aber auch darüber oder darunter liegen kann. Nach Bestrahlung wird auch ein verzögerter Verlauf elektrisch induzierter Aktionspotentiale beobachtet. Durch Erstbestrahlung mit einer Dosisleistung von 30 kR/min können bei den mei-

sten Zellen Aktionspotentiale ausgelöst werden. Die Schwelle für elektrische Reize wird durch Bestrahlung erniedrigt, obgleich strahleninduzierte Aktionspotentiale praktisch nur bei nicht vorbestrahlten Zellen registriert werden können.

Temperaturschwankungen beeinflussen das Membranpotential nur geringfügig. Für den Membranwiderstand wurden je nach Jahreszeit verschiedene Temperaturkoeffizienten gemessen. Verhältnismäßig hohe Werte wurden für die reziproke Dauer des Aktionspotentials festgestellt. Nach Bestrahlung waren diese Temperaturkoeffizienten vermindert.

Während ESCH et al. (1964) erste Veränderungen des Membranpotentials an Nitella schon bei Dosen von 600 R beschrieben, konnte in einer größeren Versuchsreihe durch Verwendung einer stabileren Meßanordnung diese einmalige Beobachtung nicht mehr realisiert werden. Bei elektrisch ausgelösten Aktionspotentialen ist, gemäß der zitierten Arbeit, auf Bestrahlung das Plateau zwischen ansteigender und abfallender Phase verlängert. Diese Beobachtung konnte insofern ergänzt werden, als bereits bei geringen Dosen am Ende des Aktionspotentials kurz vor der Rückkehr zum Ruhepotential eine Verzögerung der Repolarisation eintrat, die kurzfristig reversibel war.

Bei der Interpretation der Meßdaten lassen die durchgeführten Widerstandsmessungen allein keine Rückschlüsse auf die Veränderungen der selektiven Permeabilität der Zellmembran zu. Eine genauere Auskunft gibt Gleichung (4) auf Seite 12.

Die Anwendung dieser Gleichung nach GOLDMAN, die einen "aktiven Transport" nicht berücksichtigt, erscheint berechtigt, nachdem das Membranpotential durch Dinitrophenol während des langsamen, aber erheblichen Widerstandsanstieges nur unwesentlich verändert wurde (siehe Seite 28). Die weitere Vereinfachung mit Annahme einer nahezu ionenfreien Außenlösung,

wie sie für die Lösung nach FINDLAY zulässig ist, führt zu folgender Beziehung:

$$(7) \quad E_{i,a} = (RT/F) \; n \; P_{Cl} Cl_i / (P_K K_i + P_{Na} Na_i)$$

Gemäß dieser Formeln kann eine Veränderung der Potentialdifferenz $E_{i,a}$ unter den Versuchsbedingungen entweder durch eine Konzentrationsänderung oder durch eine Permeabilitätsänderung erfolgen. Daß Strahlung direkt und ohne Permeabilitätsänderungen zu Änderungen der Elektrolytkonzentrationen führt, die sich im Potential bemerkbar machen, ist aus quantitativen Gründen auszuschließen. Somit können die beobachteten Potential- und Widerstandsänderungen nur auf Änderungen der Permeabilitäten beruhen. Aus folgenden Gründen ist es wahrscheinlich, daß dabei der Zunahme der Permeabilität für Chlorionen in der pflanzlichen Zelle die größte Bedeutung zukommt:

a) Das Produkt $P_{Cl} Cl_i$ muß gegenüber der Summe von $P_K K_i$ + $P_{Na} Na_i$ zunehmen, um der Potentialänderung zu entsprechen.

b) Eine alleinige Abnahme der Permeabilität von Kalium und Natrium würde im Gegensatz zum Widerstandsverlauf stehen.

c) Eine Abnahme der Permeabilität von Natrium hätte wegen der geringen Ausgangsgröße eine verschwindend geringe Wirkung auf das Membranpotential.

d) Der Strom von außen (+) nach innen (-) muß bei Hyperpolarisationsimpulsen im wesentlichen von Chloridionen getragen sein, die innen in hoher Konzentration vorliegen.

Eine herabgesetzte Kaliumpermeabilität, wie sie von ESCH et al. als Erklärung für eine bei sehr hohen Dosen auftretende Verlängerung des Aktionspotentials postuliert wurde, ist entsprechend der vorübergehenden Depolarisation zusätzlich zur

Erhöhung der Chloridpermeabilität noch möglich. Die Tatsache, daß Aktionspotentiale durch Bestrahlung ausgelöst werden können, weist weiterhin auf eine Beteiligung der Chloridpermeabilität hin, da Aktionspotentiale bei Characeen nach MULLINS (1962) durch eine rapide Zunahme der Chloridpermeabilität eingeleitet werden.

Ein Vergleich unserer Untersuchungen mit Ergebnissen von GILLET (1965 a) weist auf interessante Zusammenhänge zwischen strahleninduzierten elektrischen Veränderungen und Störungen der Protoplasmaströmungen in Algen hin. Der Autor untersuchte nach verhältnismäßig hohen Dosisleistungen (99 kR/min bei 50 kV) die Permeation von NaOH durch die Zellmembran von Nitella. Bei dieser hohen Dosisleistung dürften strahleninduzierte Aktionspotentiale die Messungen der Permeation von NaOH beeinflußt haben. Er fand bei 500 kR eine Erhöhung der Permeationsgeschwindigkeit um 50% und einige Stunden nach Dosen über 750 kR einen abrupten Anstieg zu wesentlich höheren Werten. Dies entspricht dem plötzlichen Verschwinden des Widerstandes nach einer Dosis von 10^6 R (siehe Seite 24) und dem Abfall des Membranpotentials in diesem Dosisbereich (ESCH, 1966). Dieser Zusammenbruch der Membran mag mit einer Ablösung des Protoplasmas von der Zellulosewand einhergehen, wie es die Ergebnisse elektronen-mikroskopischer Untersuchungen an Nitella nach Bestrahlung mit Po^{210}-Alphateilchen andeuten (BERGSTRÖM, 1962). Durch Verwendung einer ringförmigen Quelle wurde hierbei allein die Zellwand unter weitgehender Schonung des Protoplasmas bestrahlt. Auch Verlangsamung und Erholung der Strömungsgeschwindigkeit des Protoplasmas nach einer Bestrahlung (GILLET, 1964, 1965 b) entsprechen weitgehend dem Widerstandsverlauf nach einem Aktionspotential. In gleicher Weise erfolgt hier nach höheren Dosen eine langsamere Erholung. Das vom Autor beobachtete langsame Ingangkommen der Protoplasmaströmung nach einem Bestrahlungsimpuls kann dadurch erklärt werden, daß es nach einem Aktionspotential in jedem Fall zu einem einige Sekunden dauernden Sistieren der Protoplasmaströmung kommt (UMRATH, 1953). Ebenso ähnelt die von GILLET (1965 b) beschriebene "Oszillation" der

Strömungsgeschwindigkeit der in eigenen Versuchen beobachteten Fluktuation von Membranpotential und -widerstand.

Hinweise auf eine generelle Permeabilitätserhöhung pflanzlicher Zellen nach Bestrahlung geben die Arbeiten von SRB (1964, 1965) und WATTENDORF (1964, 1965). In Plasmolyseversuchen, die SRB (1965) bei den inneren Epidermiszellen von Allium cepa durchführte, zeigte sich im Verlauf einiger Stunden nach einer Dosis von 100 bis 1000 R ein unterschiedliches Verhalten von Nichtelektrolyten und Elektrolyten. Die Permeabilität für Glyzerin und Harnstoff nahm zu, während sie für Kaliumnitrat und Kaliumbromid abnahm. WATTENDORF bestrahlte in ähnlichen Versuchen am gleichen Objekt mit Alphastrahlen von Po^{210} und berichtet von einer kurzfristigen Änderung des Plasmolyseverhaltens von Allium nach Dosen von über 1 Million rad. Die Steigerung der Empfindlichkeit gegenüber elektrischen Reizen durch Bestrahlung (siehe Seite 35) steht in Einklang mit Studien von BERGEDER (1955, 1961) am Froschherzen und von BACHOFER (1957, 1962) am Nerven. Eine Erklärung der vorliegenden Versuche durch eine Verringerung des Reizstromes über das Plasmalemma infolge einer Widerstandserhöhung scheidet aus, da gerade die überzeugendsten Versuche dieser Art bei Zellen durchgeführt wurden, deren Widerstand nach einem strahleninduzierten Aktionspotential unverändert war. Neben der charakteristischen Einleitung eines röntgenstrahleninduzierten Aktionspotentials weisen die Reizschwellenversuche darauf hin, daß der Potentialabfall nicht allein für die Auslösung verantwortlich sein kann. Die Auslösung eines Aktionspotentials hängt von dem Betrag $\triangle$ V einer erzwungenen Potentialänderung und von deren Differentialquotienten $\frac{dV}{dt}$ ab. Da auf Belichtung etwa in der gleichen Zeit eine Auslösung erfolgen kann, die aber in Form einer Kurve mit abnehmendem Differentialquotienten eingeleitet wird, dürfte letzterer von geringerer Bedeutung hierfür sein. Diese Potentialänderung wurde auch bereits aus der Charakteristik der initialen Potentialänderung vor strahleninduzierten Aktionspotentialen abgeleitet.

Eine weitgehende Übereinstimmung des Verlaufs von Membranpotential und -widerstand auf Bestrahlung besteht zwischen Nitella flexilis und der isolierten Froschhaut (TROTT, 1967). Mit ähnlicher Methodik wie in der vorliegenden Arbeit wurde dabei unter Bestrahlung ein kurzzeitiger Abfall von Membranpotential und -widerstand festgestellt. Tiefe und Dauer des Abfalls waren, wie bei der ersten Depolarisationsphase von Nitella, allein von der Dosisleistung abhängig. Allerdings trat bei Nitella die bei der Froschhaut an diese Phase anschließende "reaktive" Hyperpolarisation bei erstmaliger Bestrahlung nicht ein. Die von ESCH et al. beschriebene Hyperpolarisation habe ich nur gefunden, wenn die Zelle bereits vorbestrahlt war.

Diese Erhöhung des Membranpotentials hat ein Analogon in Aktivitätssteigerungen tierischer Membranen auf Bestrahlung. BACHOFER (1957, 1960 a, b, 1962), BACHOFER and GAUTEREAUX (1959) zeigten in vivo und in vitro, daß die elektrische Aktivität von Säugetiernerven und einzelnen Nervenfasern, gemessen an Form, Amplitude und Leitungsgeschwindigkeit des Aktionspotentials, innerhalb der ersten Minuten nach UV - und Röntgenbestrahlung erhöht sein kann. Nach BACHOFER ist dieser Effekt dosisleistungsabhängig und wird überwiegend bei niedriger Dosisleistung beobachtet. Eine erhöhte Ansprechbarkeit von bestrahlten Nerv-Muskelpräparaten wurde von KIRZON and PSHENIKOVA (1957), PORTELA et al. (1959) sowie von DAWSON and ROSEN (1962) berichtet; nach Abschluß der vorliegenden Arbeit erschien eine Veröffentlichung von SATO et al. (1967), die an Ganglienzellen von Mollusken unter Bestrahlung Änderungen der postsynaptischen Potentiale nachweisen konnten.

Weitere Veränderungen der Permeabilität werden von mehreren Autoren beschrieben. ROTHENBERG (1950) beobachtete an der Zellmembran von Loligo, daß die Permeabilität für Na^{24} nach Dosen von 50 bis 125 kR sofort erhöht ist. TING and ZIRKLE (1940) führten Messungen der Volumenänderungen von bestrahlten Human- und Rindererythrozyten in verschiedenen Salzlösungen durch.

Auch LIECHTI und WILBRANDT (1941), ZACEK and ROSENBERG (1950), SHEPPARD and BEYL (1951) und SHEPPARD and STEWART (1952) untersuchten Erythrozyten nach Röntgenbestrahlung. BUCHSBAUM and ZIRKLE (1949) bestrahlten mit Alphateilchen. Auf neuere Arbeiten mit Erythrozyten (SHAPIRO et al., 1966) soll später bei der Diskussion möglicher Mechanismen der Strahlenwirkung eingegangen werden. Ein Kaliumverlust und ein Einstrom von Natrium nach hohen Strahlendosen wurden auch von BERGEDER (1958 a, 1963), CASEY et.al. (1962) bei Muskelzellen von Kaltblütern, von BREUER und PARCHWITZ (1959, 1960 a,b) in Schnitten verschiedener Säugetiergewebe und von DOSE und DOSE (1959) in Ascitestumorzellen festgestellt.

HUG und SCHLIEP (1960) nahmen ebenfalls an, daß die Sofortwirkungen von Röntgenstrahlen auf Muskeln von Würmern und auf glatte Muskulatur von Wirbeltieren auf temporären Änderungen der Permeabilität beruhen. Im Gegensatz zu der quergestreiften Muskulatur, die sich erst nach sehr hohen Dosen kontrahiert (BERGEDER 1958 b), zeigt glatte Muskulatur Kontraktionen, die etwa 30 Sekunden nach Bestrahlungsbeginn einsetzen. Nach einer kurzzeitigen Bestrahlung von 1 - 2 Minuten Dauer mit 1 - 2 kR/min kommt es zu einer vollständigen Erschlaffung. Diese Erschlaffung kann durch Stoffwechselblockierung mit Dinitrophenol oder einfach durch Erniedrigung des pH-Wertes der Außenlösung verhindert werden. Als Folge von rasch einsetzenden Permeabilitätsänderungen können nach bisher unbestätigten Befunden von H.FRITZ-NIGGLI (1955, 1956) auch bei erstaunlich kleinen Dosen Störungen im Zitronensäurezyklus auftreten. Isolierte Mitochondrien reagierten in hypotonischer Lösung bereits auf 0,1 R, so daß angenommen wurde, daß die Zellstrukturen besonders dann gegen Strahlen empfindlich sind, wenn sie durch das hypotonische Milieu schon labilisiert wurden. Nicht strukturgebundene Fermentprozesse sollen eine wesentlich geringere Strahlenempfindlichkeit haben.

2. Hypothesen zu den Wirkungsmechanismen ionisierender Strahlen.

Die primären Vorgänge bei der Absorption von Strahlung mit Energien von 10 keV, wie sie in den Versuchen verwendet wurden, sind hinreichend bekannt. 95% der Energie werden nach den Gesetzen des Photoeffektes absorbiert. Von der zur Erzeugung eines Ionenpaares aufgewendeten Energie von ca. 32 eV entfällt etwa die Hälfte auf die Anregung von Molekülen.

Über die sekundären Wirkungen besteht sowohl hinsichtlich des Angriffspunktes als auch der Angriffsweise noch weitgehende Unklarheit. Es sollen im folgenden diesbezügliche Möglichkeiten diskutiert und Unmöglichkeiten ausgeschlossen werden.

Nach den klassischen Vorstellungen werden die meisten beobachtbaren Strahlenwirkungen interpretiert als Ausdruck strahleninduzierter, biochemisch faßbarer Veränderungen von Makromolekülen. Diese können, wiederum nach klassischer Vorstellung, zustande kommen entweder dadurch, daß die Energieübertragung in Form von Ionisation und Anregungen direkt auf die betroffenen Moleküle erfolgt, oder daß es über Radiolyseprodukte des Wassers zu Veränderungen dieser Makromoleküle kommt. Zur Zeit ist noch sehr wenig über die Strahlenwirkung auf die die Membran zusammensetzenden Makromoleküle, insbesondere die Lipoproteide, bekannt.

Es fragt sich, ob die beobachteten, unmittelbar unter Bestrahlung einsetzenden und offenbar innerhalb kurzer Zeit reversiblen Sofortreaktionen durch sekundäre, biochemisch nachweisbare, irreversible Schädigungen der Makromoleküle der Zellwandung interpretierbar sind. Insbesondere stoßen wir auf Schwierigkeiten, wenn wir außer den eigenen Experimenten zahlreiche Beobachtungen anderer Autoren über die Wirkung von kleinen Strahlendosen in der Größenordnung von 1 rad einbeziehen, die ebenfalls als Folgen einer temporären Permeabilitätsstörung betrachtet wer-

den. Fast alle in Frage kommenden Molekülarten werden erst mit beträchtlichen Dosen in der Größenordnung von 100 000 R in einem geringen Prozentsatz inaktiviert. Man muß also nach Wegen suchen, um die Wirkung auch kleiner Strahlendosen auf die Funktion der Zellmembran zu erklären. Wir stehen dabei vor der außerordentlichen Schwierigkeit, daß die molekularbiologische Basis der Permeabilitätseigenschaften der Zelle noch keineswegs gesichert ist, so daß es natürlich außerordentliche Schwierigkeiten macht zu erklären, wie ionisierende Strahlen diese Zustände beeinflussen können. Mit aller Zurückhaltung wird dabei im folgenden gezeigt, in welcher Richtung zukünftige Untersuchungen weitergehen könnten.

Leider stehen unsere Kenntnisse über die Speicherung der Anregungsenergie in Makromolekülen und in makromolekularen Strukturen, über die Energieleitung, die Orte der Energiespeicherung und die Energieabgabe noch ganz in den Anfängen, so daß kaum zwingende Schlüsse möglich sind. Jedenfalls kann es aber nicht ausgeschlossen werden, daß die absorbierte Strahlenenergie in der Größenordnung von weniger als einem eV über größere Bereiche verteilt wird, damit das Oberflächenladungsmuster dieser Makromolekularschichten und somit auch deren Funktion im Zellgefüge verändert wird.

Die Anregungsenergie kann auf zahlreiche Bindungen verteilt werden, in Makromolekülen ebenso wie in einem dreidimensionalen Netz von Kationen und Phosphatbindungen, wie es nach einer Zusammenstellung von Arbeiten über Grenzschichten (EHRL) in Membranen vorliegt. In dieser kristallgitterähnlichen Struktur kann die Anregungsenergie, ähnlich wie in einem Kondensator bis zu dessen Durchschlagen, akkumuliert werden. Im Mittel kann hier je Valenzbindung eine Energie in der Größenordnung bis zu Bruchteilen von Elektronenvolt gespeichert werden, bis es zur Zerstörung dieser Strukturelemente kommt, wozu allerdings exzessiv hohe Dosen notwendig sind. Diese Anregung ist in flüssigen und festen Phasen erschwert, da die Energie leicht an be-

nachbarte Moleküle abgegeben werden kann. Eine bevorzugte lokale Anregung kann auf beiden Seiten der Membran auftreten, da hier durch den Driftvektor ionisierte Teilchen angereichert werden. Elektronen mit wenigen eV können die Ladungen der zahlreich vorhandenen Kationen unter erheblicher Energiefreisetzung neutralisieren. Dies kann zur Zerstörung der Strukturen an bestimmten Membranorten führen, die für die spezifische Leitfähigkeit verantwortlich sind. Diese Reaktion würde für Natrium- und Kaliumionen nach folgendem Schema verlaufen:

(8)
$$Na^+ + e \rightarrow Na^*$$
$$Na^* + H_2O \rightarrow Na^+ + OH^- + \langle H \rangle$$

Durch das aktivierte Natriumatom Na^* sind eventuell auch noch andere Reaktionen möglich. Es ist unwahrscheinlich, daß Poren in der Membran, deren lichte Weite genau mit dem Durchmesser der Natrium- und Kaliumionen von 3.8 bzw. 2.5 Å übereinstimmt, von derartigen Reaktionen nicht verändert werden. Dieser Mechanismus hat in anderen Strukturen als in der Zellmembran mit ihrer hohen elektrischen Feldstärke und der selektiven Ionenleitfähigkeit keine Bedeutung. Im allgemeinen werden die Elektronen von Molekülen mit hoher Elektronenaffinität (MAGEE, 1952), wie molekularem Sauerstoff und Wasser, eingefangen. Die Folgereaktionen werden von den jeweiligen Bindungsenergien und von den umgebenden Molekülen bestimmt.

Auf beiden Seiten der Membran kann die Ladung der Ionen auf neutrale Moleküle übertragen werden, wenn deren Ionisationspotential geringer ist:

(9)
$$A^+ + B \longrightarrow A + B^+$$

Theoretische Überlegungen veranlaßten MAGEE and FUNABASHI (1959) zu dem Schluß, daß zwei Moleküle während einer Ladungsübertragung etwa eine Sekunde lang aneinandergekettet sein können. Dieser Zeitraum ist sehr lang im Vergleich mit anderen chemischen Reaktionen. Während dieses Zwischenzustandes können andere Moleküle angelagert werden und damit komplexere Reaktionen ermöglichen. Mit diesem Mechanismus können eventuell Wandladungen in den Poren von Membranen verändert werden. Diese Wandladungen sollen eine bevorzugte Kationen- oder Anionenleitfähigkeit in der Membran ermöglichen. Bei den Characeen ist dies erforderlich, da im Ruhezustand eine hohe Kalium-, im Beginn des Aktionspotentials eine hohe Chloridpermeabilität vorherrscht. Da für den Membrandurchtritt von hydratisierten Kalium- und Chloridionen Poren gleichen Durchmessers erforderlich sind, kann die Differenzierung nur durch die elektrische Ladung erfolgen (ITO et al., 1962;ECCLES, 1964). Die Umkehrung der Wandladungen muß über einen aktivierten Zwischenzustand erfolgen, der durch einen elektrischen Reiz oder durch eine genügend hohe Dosisleistung ionisierender Strahlen erreicht wird. Wenn Träger einzelner Wandladungen, die man sich als Dipole vorstellen kann, durch Bestrahlung irreversibel verändert werden und damit ihre polare Struktur verlieren, so wird die erforderliche Energie zur Umkehr der gesamten Wandladungen geringer, ohne daß zunächst das Ruhepotential oder der Membranwiderstand eine Veränderung zeigen. Die Umkehrung der Wandladungen kann noch durch die Wirkung ionisierender Teilchen auf Wasserstoffbindungen gefördert werden. PLATZMAN and FRANCK (1958) berechneten, daß in der Umgebung einer Ionisation Wasserstoffbindungen vorübergehend getrennt werden, da das plötzliche Auftreten einer elektrischen Ladung elektrische Dipole trennt. Die Sekundärstruktur von Proteinen soll dadurch beeinträchtigt werden.

Direkte Treffer könnten auch die Lipoproteidschichten der Zellmembran beeinträchtigen. Diese bewirken den hohen elektrischen Isolationswiderstand. Es ist bekannt (MEAD, 1952), daß ionisierende Strahlen die Oxydation von Fetten durch eine Kettenreaktion einleiten, durch die bei jeder einzelnen Ionisation zahlreiche Moleküle oxydiert werden. Danach muß eine isolierte Ionisation bei geringer Ionisationsdichte keinen Membranschaden hinterlassen, wenn nicht die Wirkung durch einen Folgeprozeß mit Sauerstoff verstärkt wird. Das Absinken des Potentials und das Zusammenbrechen des Widerstandes, wie sie bei Nitella gezeigt wurden, könnten eventuell damit zusammenhängen.

Als eine der wesentlichsten sekundären Wirkungen von ionisierenden Strahlen wir die Bildung freier Radikale in wäßrigen Lösungen angesehen. Diese Radikale können sekundäre Veränderungen im chemischen Aufbau von Mikrostrukturen hervorrufen. Angriffspunkte für Radikale bilden SH-Gruppen von Proteinen (ROTHSTEIN and WEED, 1963; LING, 1962). SCHWARTZ et al. (1960) und RASMUSSEN et al. (1960) postulierten für Membranen Proteine, deren Sekundär- und Tertiärstruktur für die selektive Permeabilität verantwortlich sind. Die Steuerung der Permeabilität soll über eine Veränderung von SH-Bindungen und durch eine damit erreichte Umformung der Sekundär- und Tertiärstruktur erfolgen.

BARRON (1952) zeigte, daß bei Enzymen mit SH-Gruppen pro 100 eV absorbierter Energie drei Moleküle verändert werden, während es bei SH-freien Enzymen nur 0.03 bis 0.5 Moleküle sind. Nach JACOB und JANDL (1962) entsprechen Substanzen, die Sulfhydrylgruppen blockieren, wie p-Hydroxymercuribenzoat (PHMB) oder N-Äthylmaleimid(NEM), in ihrer Wirkungsweise ionisierenden Strahlen. Strahlenschutzsubstanzen schützen und reagieren durch Sulfhydrylgruppen (ELDJARN and PIHL, 1960; PIHL and SANNER, 1963). Nachdem NOVACK and SHAPIRO (1960) und FLEMMING (1960, 1961) berichtet hatten,

Theoretische Überlegungen veranlaßten MAGEE and FUNABASHI (1959) zu dem Schluß, daß zwei Moleküle während einer Ladungsübertragung etwa eine Sekunde lang aneinandergekettet sein können. Dieser Zeitraum ist sehr lang im Vergleich mit anderen chemischen Reaktionen. Während dieses Zwischenzustandes können andere Moleküle angelagert werden und damit komplexere Reaktionen ermöglichen. Mit diesem Mechanismus können eventuell Wandladungen in den Poren von Membranen verändert werden. Diese Wandladungen sollen eine bevorzugte Kationen- oder Anionenleitfähigkeit in der Membran ermöglichen. Bei den Characeen ist dies erforderlich, da im Ruhezustand eine hohe Kalium-, im Beginn des Aktionspotentials eine hohe Chloridpermeabilität vorherrscht. Da für den Membrandurchtritt von hydratisierten Kalium- und Chloridionen Poren gleichen Durchmessers erforderlich sind, kann die Differenzierung nur durch die elektrische Ladung erfolgen (ITO et al., 1962;ECCLES, 1964). Die Umkehrung der Wandladungen muß über einen aktivierten Zwischenzustand erfolgen, der durch einen elektrischen Reiz oder durch eine genügend hohe Dosisleistung ionisierender Strahlen erreicht wird. Wenn Träger einzelner Wandladungen, die man sich als Dipole vorstellen kann, durch Bestrahlung irreversibel verändert werden und damit ihre polare Struktur verlieren, so wird die erforderliche Energie zur Umkehr der gesamten Wandladungen geringer, ohne daß zunächst das Ruhepotential oder der Membranwiderstand eine Veränderung zeigen. Die Umkehrung der Wandladungen kann noch durch die Wirkung ionisierender Teilchen auf Wasserstoffbindungen gefördert werden. PLATZMAN and FRANCK (1958) berechneten, daß in der Umgebung einer Ionisation Wasserstoffbindungen vorübergehend getrennt werden, da das plötzliche Auftreten einer elektrischen Ladung elektrische Dipole trennt. Die Sekundärstruktur von Proteinen soll dadurch beeinträchtigt werden.

Direkte Treffer könnten auch die Lipoproteidschichten der Zellmembran beeinträchtigen. Diese bewirken den hohen elektrischen Isolationswiderstand. Es ist bekannt (MEAD, 1952), daß ionisierende Strahlen die Oxydation von Fetten durch eine Kettenreaktion einleiten, durch die bei jeder einzelnen Ionisation zahlreiche Moleküle oxydiert werden. Danach muß eine isolierte Ionisation bei geringer Ionisationsdichte keinen Membranschaden hinterlassen, wenn nicht die Wirkung durch einen Folgeprozeß mit Sauerstoff verstärkt wird. Das Absinken des Potentials und das Zusammenbrechen des Widerstandes, wie sie bei Nitella gezeigt wurden, könnten eventuell damit zusammenhängen.

Als eine der wesentlichsten sekundären Wirkungen von ionisierenden Strahlen wir die Bildung freier Radikale in wäßrigen Lösungen angesehen. Diese Radikale können sekundäre Veränderungen im chemischen Aufbau von Mikrostrukturen hervorrufen. Angriffspunkte für Radikale bilden SH-Gruppen von Proteinen (ROTHSTEIN and WEED, 1963; LING, 1962). SCHWARTZ et al. (1960) und RASMUSSEN et al. (1960) postulierten für Membranen Proteine, deren Sekundär- und Tertiärstruktur für die selektive Permeabilität verantwortlich sind. Die Steuerung der Permeabilität soll über eine Veränderung von SH-Bindungen und durch eine damit erreichte Umformung der Sekundär- und Tertiärstruktur erfolgen.

BARRON (1952) zeigte, daß bei Enzymen mit SH-Gruppen pro 100 eV absorbierter Energie drei Moleküle verändert werden, während es bei SH-freien Enzymen nur 0.03 bis 0.5 Moleküle sind. Nach JACOB und JANDL (1962) entsprechen Substanzen, die Sulfhydrylgruppen blockieren, wie p-Hydroxymercuribenzoat (PHMB) oder N-Äthylmaleimid(NEM), in ihrer Wirkungsweise ionisierenden Strahlen. Strahlenschutzsubstanzen schützen und reagieren durch Sulfhydrylgruppen (ELDJARN and PIHL, 1960; PIHL and SANNER, 1963). Nachdem NOVACK and SHAPIRO (1960) und FLEMMING (1960, 1961) berichtet hatten,

daß Sulfhydrylverbindungen Erythrozyten vor Röntgenstrahlen schützen, zeigten SHAPIRO et al. (1966), daß diese auch die Wirkungen von PHMB und NEM beseitigen. Letztere Versuche, die mit Erythrozyten bei 4° C durchgeführt wurden, beweisen die dominierende Rolle der Sulfhydrylgruppen bei den sekundären Wirkungen ionisierender Strahlen.

Studien von BRESCIANI et al. (1964) an Erythrozyten wiesen auch darauf hin, daß Bestrahlung den "aktiven Transport" gleichzeitig mit dem passiven Einstrom von Natrium verändert. Die Autoren nehmen an, daß die erzielte Erhöhung des passiven Ionenstroms teilweise auf einer leichteren Beweglichkeit der Membranstruktur beruht. MULLINS beobachtete nach Bestrahlung ebenfalls einen verminderten aktiven Transport von Natrium bei Nitella. CIVIDALLI (1963) glaubt, enzymatische Ursachen dieser Ionenverschiebungen ausschließen zu können.

BERGEDER (1962) äußerte bei einer Diskussion über die möglichen Wirkungsmechanismen ionisierender Strahlen auf die Zellmembran die originelle Ansicht, daß die im elektrischen Feld der Zellmembran erzeugten Ionenpaare besonders wirksam sein könnten, und daß dies die Ursache eines Verstärkermechanismus sein könne. Er wies auf das starke elektrische Feld von 10^5 Vcm^{-1} hin, das bei einer Potentialdifferenz von 100 mV an einer Doppelschicht von 100 Å entsteht. Nach seiner Ansicht übt dieses Feld auf alle Ladungsträger in der Membran eine Wirkung aus und beeinflußt damit den strukturellen Aufbau der Membran. Bei der Absorption ionisierender Strahlen könnte die Wanderungsrichtung der entstandenen Ionenpaare verändert werden. Eine Berechnung des Stromes, der durch die entstandenen Ionenpaare getragen sein könnte, ist im Anhang A durchgeführt und zeigt, daß der physiologische Ionenstrom um einige Zehnerpotenzen höher ist und Potential- und Leitfähigkeitsänderungen der Zellmembran damit nicht erklärt werden können. Im Zusammenhang mit dieser Ansicht BERGEDERs erwähnt HUTCHINSON (1962) unter Hinweis

auf PLATZMAN und FROEHLICH (1953), daß Elektronen, die in Festkörpern freigesetzt werden, nur nach Durchwanderung einer beträchtlichen Entfernung eingefangen werden. Wenn die Energie der Elektronen im Mittel weniger als 5 eV beträgt, werden sie durchschnittlich nach einigen hundert Angström eingefangen. Für diese Elektronen könnte das elektrische Feld als Trap-Mechanismus wirken. Allerdings liegen für diese Hypothese keine sicheren Anhaltspunkte vor.

VI. Anhang

A)

1) Ergänzung zur Diskussion BERGEDER (1962)

BERGEDER vertrat die Auffassung, daß die durch Bestrahlung in der Membran entstehenden Teilchen von dem elektrischen Feld beeinflußt werden. Hierfür ist es erforderlich, daß die mittlere kinetische Energie der Ionen nicht wesentlich größer als 0.1 eV ist, der Energie, die ein geladenes Teilchen in diesem elektrischen Feld aufnehmen kann. Bekanntlich gilt für die mittlere kinetische Energie $E_{\overline{kin}}$ eines freien Teilchens unabhängig von seiner Masse:

10) $$E_{\overline{kin}} = \frac{3}{2} \cdot k \cdot T = \frac{1}{2} \cdot m \cdot \bar{v}^2 ,$$

worin m = die Masse des Teilchens, $\bar{v}$ = seine mittlere Geschwindigkeit, T = die Temperatur in Grad Kelvin und k = die Boltzmannsche Entropiekonstante mit $8,61665 \cdot 10^{-5}$ eVgrd^{-1}.
Somit bei Raumtemperatur entsprechend ca. 300° K:

(11) $$E_{\overline{kin}} = 3,9 \cdot 10^{-2} \text{ eV}.$$

Jedes geladene Teilchen erhält also im elektrischen Feld der Membran eine erhebliche zusätzliche Energie. Es entsteht dadurch eine Driftbewegung in der Richtung der elektrischen Feldlinien. Dabei ist nur einer von drei Freiheitsgraden betroffen, so daß sich das Verhältnis von der möglichen Energiezunahme im elektrischen Feld zu der thermischen Energie der Ionen noch um einen zusätzlichen Faktor vergrößert. Irrtümlich wurde in der zitierten Diskussion die thermische Energie eines Teilchens für wesentlich höher als 0.1 eV gehalten.

Bei einem so erheblichen Einfluß des elektrischen Feldes auf die Ladungsträger in der Membran muß die Frage aufgeworfen werden, ob die Zahl der maximal erzeugten Ionenpaare direkt die Wirkung auf die Leitfähigkeit erklären kann. Die höchste in den Versuchen verwendete Dosisleistung von 120 kR/min = $2 \cdot 10^3$ $Rsec^{-1}$ entspricht mit ausreichender Genauigkeit

$$2 \cdot 10^3 \text{ rad sec}^{-1}$$
$$\text{oder} \quad 2 \cdot 10^3 . 100 \text{ erg g}^{-1} \text{ sec}^{-1}$$
$$\text{oder} \quad 1{,}2 \cdot 10^{17} \text{ eV} \cdot \text{g}^{-1} \text{ sec}^{-1}$$

Unter der Voraussetzung, daß die erforderliche Energie zur Bildung eines Ionenpaares 34 eV beträgt und nur unwesentlich von der physikalischen Zustandsform (gasförmig, flüssig, fest) eines Absorbens abhängt (MINDER und LIECHTI, 1945), entstehen dadurch

$$4 \cdot 10^{15} \text{ Ionenpaare g}^{-1} \text{ sec}^{-1}$$

Bei der Annahme einer Membrandicke von 100 Å, wie sie in zahlreichen elektronenmikroskopischen Arbeiten über verschiedene Membranen gefunden wurde (MERKER, 1964), entstehen pro cm^2 Membranfläche, entsprechend 10^{-6}g:

$$4 \cdot 10^9 \text{ Ionenpaare sec}^{-1}$$
$$\text{oder} \quad 6 \cdot 10^{-15} \text{ equiv. sec}^{-1}$$

oder, bei einer für einen Sättigungsstrom ausreichenden Feldstärke, $6 \cdot 10^{-10}$ Ampère.

Dieser Strom liegt um 3 Zehnerpotenzen unter dem physiologischen Ionenstrom. Daraus folgt, daß die Leitfähigkeitserhöhung unter Bestrahlung durch sekundäre physiko-chemische Verstärkerprozesse verursacht werden muß.

2) Berechnung von Aktivierungsenergien

Um Anhaltspunkte für die Aktivierungsenergien zu erhalten, die für Membranprozesse erforderlich sind, und um deren mögliche Änderungen unter Bestrahlung zu untersuchen, wurden die Temperaturkoeffizienten der Membranleitfähigkeit und des Aktionspotentials bestimmt. Die van't HOFFsche Gleichung bringt nur zum Ausdruck, daß die gemessenen Parameter exponentiell mit der Temperatur ansteigen. Die bei biologischen Systemen charakteristische Abhängigkeit des Temperaturkoeffizienten von der Temperatur (CROZIER, 1924, 1926) war bei dem engen Arbeitsbereich um 20° C und bei der erheblichen Streuung der Meßwerte nicht zu bestimmen. ARRHENIUS (nach NETTER, 1959, und EGGERT, 1960) stellte 1889 für die Reaktionskinetik die fundamentale Beziehung auf:

$$X = X_0 \cdot e^{-\frac{q}{kt}} \tag{12}$$

worin q und X_o = charakteristische Konstanten für jede Reaktion, q = Aktivierungsenergie in eV, T = Temperatur in Grad Kelvin, X = Parameter bei der Temperatur T, $k = 8{,}61665 \cdot 10^{-5}$ eVgrd^{-1} (Boltzmannsche Entropiekonstante). Bei Verwendung von Meßwerten X_1 und X_2 bei den Temperaturen T_1 und T_2 gilt:

$$X_1 = X_0 \cdot e^{-\frac{q}{kT_1}} \tag{13}$$

und

$$X_2 = X_0 \cdot e^{-\frac{q}{kT_2}}$$

So ergibt sich:

$$\frac{X_1}{X_2} = e^{\frac{q}{k}\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right)} \tag{14}$$

oder: $$\ln \frac{X_1}{X_2} = \frac{q}{k} \frac{T_1 - T_2}{T_1 \cdot T_2}$$

Abbildung 15 zeigt die Meßwerte eines Versuches nach dieser Gleichung aufgetragen (Seite 61).

Nun ist:

(15) $$X_2 = X_1 \cdot Q_{10} \qquad \text{bei } T_2 = T_1 + 10^{\circ}C$$

also $$\ln Q = \frac{q}{k} \frac{10}{T\,(T+10)}$$

(16) $$\ln Q_{10} = \frac{q}{k} \frac{10}{T_1 (T_1 + 10)}$$

Für die vorliegenden Messungen und die meisten Angaben von Temperaturkoeffizienten gilt mit ausreichender Genauigkeit bei einer Temperatur von ca. 300 Grad Kelvin:

(17) $$\ln Q_{10} \approx 1{,}1 \cdot 10^{-4} \cdot \frac{q}{k},$$

oder

(18) $$q \approx 0{,}76 \cdot \ln Q_{10} \cdot$$

Somit läßt sich aus dem Temperaturkoeffizienten Q_{10} die für den Mechanismus erforderliche Aktivierungsenergie berechnen. Den auf Seite 37 erwähnten Temperaturkoeffizienten der Leit-

fähigkeit entsprechen Aktivierungsenergien von 0,33 ± 0,14 eV (Standardabweichung). Diese Berechnung läßt keine genauen Rückschlüsse auf die Art des Mechanismus zu, der der Aktivierungsenergie bei der Leitfähigkeit der Membran zugrunde liegt. Neben einer passiven Diffusion von Ionen kann hier auch der Mechanismus einer Austauschdiffusion mit einem Carrier (HEINZ und NETTER, 1956) oder ein begrenzter Ionentransport an einem Membranort, wie es HODGKIN and KEYNES (1955 b) am Cephalopodennerven zeigten, in Erwägung gezogen werden. In

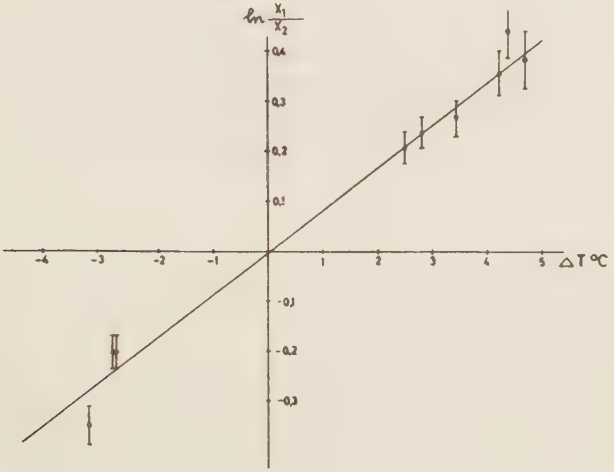

Abbildung 15

Erklärung im Text (Seite 60)

jedem Fall ist die berechnete Aktivierungsenergie ein Mittelwert für die passive Diffusion und für aktive Transportvorgänge. Nach Messungen von HODGKIN and KEYNES (1955 a) am Tintenfischaxon gilt für den Kaliumeinstrom und den Natriumausstrom ein Temperaturkoeffizient Q_{10} von 3.3, während er für die umgekehrte Bewegungsrichtung sehr niedrig ist ($Q_{10} \simeq 1$).

Wenn obige Beobachtung auch auf den noch komplexeren Ablauf des Aktionspotentials angewendet werden kann, so wird daraus ersichtlich, daß die für diesen Ablauf erforderlichen Aktivierungsenergie, ausgehend von mehr als 2 eV, nach 500 kR auf 0,8 eV abfallen kann, entsprechend dem Abfall des Temperaturkoeffizienten Q_{10} von 15 auf 3,3. Diese Energien liegen rein überschlagsmäßig in vernünftigen Grenzen, da unter anderem beispielsweise Leuchterscheinungen, wie sie beim Ablauf chemischer Reaktionen beobachtet werden, Energiesprünge in der gleichen Größenordnung erfordern. Diese Chemilumineszenz kann nur eintreten, wenn bei einer Reaktion die freiwerdende Energie die Energie des Lichtes

(19) $$E = h \cdot \nu$$

übersteigt. Im sichtbaren Bereich ist dafür also bei $4\text{-}8 \cdot 10^3$ Å eine Energie von 1,25-3 eV erforderlich. So ist z.B. das Aktionspotential bei der Dinoflagellate *Noctiluca miliaris* (ECKERT, 1965) mit einer Chemilumineszenz gekoppelt, die mit bloßem Auge sichtbar ist (Meeresleuchten). Es ist also an eine Ähnlichkeit im Enzymsystem von Nitella und Noctiluca zu denken. Die Ursache mag hier in einem noch lückenhaft ausgebildeten Enzymsystem liegen, das die katalytische Übertragung der Energie oxydativer Stoffwechselreaktionen noch nicht in so diskreten und teilweise gekoppelten Schritten, wie beispielsweise in der Atmungskette, ermöglicht.

Abbildung 16 zeigt zwei Wege des Stoffwechsels. Nachdem Substanz A zu B umgebaut ist, kann diese auf einem Seitenweg ihre Energie als Chemilumineszenz abgeben. Entweder löst nach diesem Schema ein Aktionspotential die Primärreaktion A→B aus, oder es bremst die Weiterreaktion nach M.

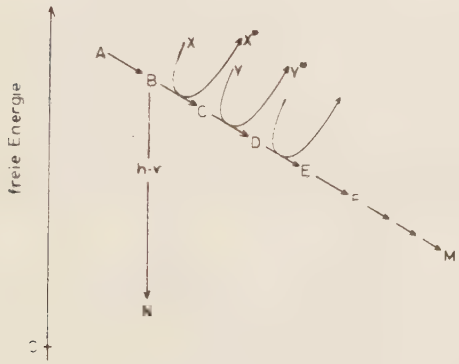

Abbildung 16

B)

1) Abschätzung der mittleren Quantenenergie (FASSBENDER, 1962; LINDACKERS, 1962).

Es gilt für die Absorption von Röntgenquanten:

(20) $$\alpha = \Sigma_i \mu_i \rho_i ;$$

worin: α = linearer Absorptionskoeffizient

μ_i = Massenabsorptionskoeffizient = $\frac{\alpha}{\rho_i}$

ρ_i = Dichte des Elementes i

Das für die Messung des Abfalls der Dosisleistung verwendete Cellon hat ähnliche Absorptionseigenschaften wie Wasser. Für Wasser gilt (m_i = Atomgewicht):

(21) $$\alpha_{H_2O} = \mu_H \cdot \frac{2m_H}{2m_H + m_O}\rho + \mu_O \cdot \frac{m_O}{2m_H + m_O}\rho = (\frac{1}{9}\mu_H + \frac{8}{9}\mu_O)\rho$$

α konnte aus der gemessenen Halbwertsschicht d (= 1mm) bestimmt werden.

22) $$\frac{1}{2}J_0 = J_0 e^{-\alpha d}; \qquad \alpha = \frac{\ell n 2}{d}.$$

μ_i in Abhängigkeit von der Quantenenergie wurde aus Tabellenwerken entnommen (PHILIPS 1962). Bei 10 keV ergab sich in erster Näherung eine Übereinstimmung von Gleichung (21) und (22) für die Halbwertsschicht d von 1 mm.

2) Statistik:

Als Mittelwerte $\bar{x}$ wurden arithmetische Mittel angegeben:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \cdots + x_N}{N} = \frac{\Sigma x}{N}; \tag{23}$$

als Standardabweichung s wurde wie üblich bezeichnet:

$$s = \left\{\frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{N-1}\right\}^{\frac{1}{2}}; \tag{24}$$

als Standardabweichung des Mittelwertes:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{N}}. \tag{25}$$

VII. Zusammenfassung

Nach einem kurzen Einblick in die Literatur über die Wirkungen ionisierender Strahlen auf die Permeabilität von Zellmembranen wurden Arbeiten über die elektrophysiologischen Grundlagen der durchgeführten Messungen soweit angeführt, als sie zum Verständnis der spezifischen Eigenschaften der verwendeten Süßwasseralge, Nitella flexilis, aus der Familie der Characeen, erforderlich erschienen. Eigene Untersuchungen sollten vor allem klären, wodurch Potentialänderungen bei Nitella mit Röntgenstrahlen ausgelöst werden können, und wie in jüngeren Arbeiten postulierte Permeabilitätsänderungen unter und kurz nach Bestrahlung verlaufen. Aus diesem Grunde wurde der Membranwiderstand bei Nitella flexilis mit eingeprägtem Strom gemessen, bei gleichzeitiger Registrierung des Membranpotentials sowie der Temperatur und der Leitfähigkeit der die Zelle umgebenden Spülflüssigkeit.

Die Versuche ergaben, daß die Potentialänderungen bei Bestrahlung auf einer Leitfähigkeitsänderung beruhen, und zwar vorwiegend auf einer Steigerung der Permeabilität für Chloridionen. Membranpotential und Membranwiderstand zeigten korrespondierende Schwankungen, die sofort mit Bestrahlungsbeginn einsetzten.

Nach Bestrahlung wurden Veränderungen im Ablauf von Aktionspotentialen beobachtet. Durch genügend hohe Dosisleistungen konnten auch Aktionspotentiale ausgelöst werden. Während die Erregbarkeit einer Zelle durch elektrische Reize nach Bestrahlung zunahm, wurde gleichzeitig die Empfindlichkeit für weitere Bestrahlungen herabgesetzt.

Das Membranpotential war weitgehend unabhängig von Temperaturschwankungen. Für den Membranwiderstand wurden jahreszeitlich verschiedene Temperaturkoeffizienten gemessen. Verhältnismäßig hohe Werte wurden für die reziproke Dauer des Aktionspotentials

festgestellt. Nach Bestrahlung waren diese Temperaturkoeffizienten vermindert.

Diese Ergebnisse wurden mit den Arbeiten anderer Autoren verglichen und Mechanismen der Permeabilitätsänderungen an Membranen diskutiert, die nach Bestrahlung auftreten könnten. Außerdem wurde noch die Aktivierungsenergie permeabilitäts-bestimmender Mechanismen bei Nitella berechnet.

VIII. Literaturverzeichnis

1 BACHOFER, C.S. : Enhancement of activity of nerves by X-rays. Science 125, 1140-1141 (1957)

2 -- : Ultraviolet effects on refractory period of nerve. Rad.Res. 13, 850-853 (1960 a)

3 -- : Electrophysiological effects of ultraviolet radiation on single nerve fibres. Arch.biochem.biophys. 88, 333-338 (1960 b)

4 -- : Radiation effects on isolated nerves. In: Effects of ionizing radiation on the nervous system. IAEA Wien 1962, p. 13-26

5 BACHOFER, C.S. and M.E.GAUTERAUX: X-ray effects on single nerve fibres. J.gen.Physiol. 42, 723-735 (1959)

6 BARR, Ch.E. and T.C.BROYER: Effect of light on sodium influx, membrane potential and protoplasmic streaming in Nitella. Plant Physiology 39, 48-52 (1964)

7 BARRON, E.S.G. : The action of ionizing radiations on some systems of biological importance. In: The basic aspects of radiation effects on living systems. Ed.by J.J. Nickson. Wiley & Sons, New York, 1952, p. 216-240

8 BENNETT, M.C. and E. RIDEAL: Membrane behaviour in Nitella. Proc. Roy. Soc. (London) B 142, 483-496 (1954)

9 BERGEDER, H.D. : Sofortwirkungen von Röntgenstrahlen am Froschherzen.
Sonderband 35 Strahlentherapie, 1955, p.205-208

10 -- : Kaliumverlust von Kaltblütermuskeln nach Röntgenbestrahlung.
Naturwiss. 45, 61 (1958 a)

11 -- : Einfluß von Röntgenstrahlen auf isolierte Muskeln.
Strahlentherapie 106, 309-312 (1958 b)

12 -- : Untersuchungen zum Einfluß ionisierender Strahlung auf Zellmembranen. I. Änderungen von Erregungsabläufen durch Röntgenstrahlen.
Strahlentherapie 114, 406-414 (1961)

13 -- : On the action mechanisms of ionizing radiation to initiation processes.
in: Effects of ionizing radiation on the nervous system.
IAEA Wien 1962, p. 485-488

14 -- : Grenzflächen.
in: Strahlenpathologie der Zelle. Hrsg. E.Scherer und H.S. Stender. Thieme-Verlag Stuttgart 1963, p. 69-84

15 BERGSTRÖM, R.M.: The effect of 5,3 MeV Po-210 alpha particles on the resting membrane potential and ultrastructure of Nitella flexilis.
Ann.Med.Exp.Fenniae 40, 45-53 (1962)

16 BLINKS, L.R. : The direct current resistance of Nitella.
J.gen.Physiology 13, 495-508 (1930)

17 BLINKS, L.R. : The effects of current flow on bioelectric potential. III. Nitella.
J.gen.Physiology 20, 229-265 (1936-37)

18 -- : The relations of bioelectric phenomena to ionic permeability and to metabolism in large plant cells.
Cold Spring Harbour Symposia on Quantitative Biology 8, 204-215 (1940)

19 BLINKS, L.R. and M.J. PICKETT: The effect of oxidants and reductants upon the bioelectric potential of Nitella.
J.gen.Physiology 24, 33-44 (1940-41)

20 BRESCIANI, F., F.AURICCHIO and C. FIORE: Effects of X-rays on movement of sodium in human erythrocytes.
Rad.Res. 21, 394-412 (1964)

21 BREUER, H. und K.H. PARCHWITZ: Wirkung der Röntgenstrahlen auf den aktiven Transport von Natrium und Kalium sowie die Atmung in Nierenschnitten.
Strahlentherapie 110, 451-455 (1959)

22 -- : Über die Wirkung der Röntgenstrahlung auf die endogene Atmung verschiedener Organe.
Strahlentherapie 113, 83-88 (1960 a)

23 -- : Verhalten von Elektrolyten und energieliefernden Prozessen in der Milz nach intraoperativer lokaler Röntgenbestrahlung.
Strahlentherapie 113, 595-602 (1960 b)

24 BRUMMER, K. : Weitere Beobachtungen über Permeabilitätsänderungen von Zellen unter Röntgenbestrahlung.
Strahlentherapie 21, 447-451 (1926)

25 -- : Die elektrischen Ladungen der Erythrocyten als Hauptfaktor der Ursache der Senkungsgeschwindigkeit.
Strahlentherapie 22, 322-326 (1926)

26 BUCHSBAUM, R. and R.E. ZIRKLE: Shrinking and swelling after alpha irradiation of various parts of large erythrocytes.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 72, 27-29 (1949)

27 BURKHARDT, D.: Ultramikroelektroden aus Glas, ihre Herstellung und Verwendung bei elektrophyiologischen Messungen.
Glas- und Instrumententechnik 3, 115-122 (1959)

28 CASEY, E.J.: Biophysics. Concepts and Mechanismus.
Reinhold Publ. New York, 1962

29 CIVIDALLI, G.: Effect of gamma irradiation on glucose utilization, glutathione and electrolyte content of the human erythrocyte.
Rad.Res. 20, 564-576 (1963)

30 COLE, K.S. and H.J. CURTIS: Electric impedance of Nitella during activity.
J.gen.Physiology 22, 37-64 (1938)

31 CROZIER, W.J.: On the critical thermal increment for the locomotion of a diplopod.
J.gen.Physiology 7, 123-136 (1924)

32 CROZIER, W.J.: The distribution of temperature; characteristics for biological processes, critical increments for heart rates.
J.gen.Physiology 9, 531-546 (1926)

33 CURTIS, H. J. and K.S. COLE: Transverse electric impedance of Nitella.
J.gen.Physiology 21, 189-201 (1937)

34 DAWSON, K.B. and D.ROSEN: Increased response of the frog nervemuscle preparation following X-irradiation.
in: The effects of ionizing radiation on the nervous system.
in: IAEA Wien 1962, p. 43.

35 DOSE, K. und U. DOSE: Aufhebung der Glykolysehemmung nach Röntgenbestrahlung von Ascites-Tumorzellen durch Phosphat.
Biochem.Z. 332, 214-216 (1959)

36 DUTROCHET, H.: Observations sur la circulation des fluides chez la Chara fragilis. § 7: Influence de la temperature sur la circulation du Chara.
Ann.Sci.Naturell.Ser.2, 9, 5-38; 24-29; 65-78 (1837)

37 ECCLES, J.C.: The physiology of synapses.
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1964

38 ECKERT, R.: Bioelectric control of bioluminescence in the Dinoflagellate Noctiluca.
Science 147, 1140-1147 (1965)

39 ELDJARN, L. and A.PIHL: Mechanism of protective and sensitizing action.
in: Mechanismus in radiobiology. Ed.by M.Errera and A. Forssberg. Academic Press New York 1960. Vol.II, p.231-296

40 ESCH, H.: Dose-dependent gamma-irradiation effects on the resting potential of Nitella flexilis. Rad.Res. 27, 355-362 (1966)

41 ESCH, H., H. MILTENBURGER und O. HUG: Die Beeinflussung elektrischer Potentiale von Algenzellen durch Röntgenstrahlen. Biophysik 1, 380-388 (1964)

42 FASSBENDER, H.: Einführung in die Meßtechnik der Kernstrahlung und die Anwendung der Radioisotope. Thieme-Verlag Stuttgart 1962, 2.Auflage

43 FINDLAY, G.P.: Studies of action potentials in the vacuole and cytoplasm of Nitella. Austral.J.Biol.Sci. 12, 412-426 (1959)

44 FINDLAY, G.P.: Voltage-clamp experiments with Nitella. Nature (London) 191, 812-814 (1961)

45 -- : Calcium ions and the action potential in Nitella. Austral.J.Biol.Sci. 15, 69-82 (1962)

46 FLEMMING, K.: Model for chemical protection against radiation. II. Protective action of sulfhydryl compounds against destruction of permeability in X-irradiated erythrocytes. Strahlentherapie 116, 404-414 (1961)

47 FRANKENHAEUSER, B. and A.L. HODGKIN: The action of calcium on the electrical properties of squid axons. J.Physiol. 137, 218-244 (1957)

49 FRITZ-NIGGLI, H.: Hemmung der Enzymaktivität isolierter Mitochondrien durch kleine Röntgendosen. Naturwiss. 42, 585-586 (1955)

50 FRITZ-NIGGLI, H.: Enzymatische Strahlenschädigungen von Lebermitochondrien durch die minimale Röntgendosis von 0, 1 R
Naturwiss. 43, 425-426 (1956)

51 GAFFEY, C.T.: Bioelectric sensitivity to irradiation of the retina and visual pathways.
in: Response of the nervous system to ionizing radiation Ed.by T.J. Haley and R.S. Snider, Little, Brown & Co.,
Boston 1964, p. 243-270

52 GAFFEY, C.T. and L.J. MULLINS: Ion fluxes during the action potential in Chara.
J. Physiol. 144, 505-524 (1958)

53 GILLET, C.: Relations entre la dose de rayons X et la vitesse du courant cytoplasmique chez Nitella flexilis Ag.
Protoplasma 58, 286-293 (1964)

54 -- : Perméabilité des membranes cellulaires et modification du courant cytoplasmique du Nitella flexilis après irradiation.
Int.J.Rad.Biol. 8, 533-539 (1965 a)

55 -- : Restauration du courant cytoplasmique aussitôt après l'irradiation.
Protoplasma 60, 24-30 (1965 b)

56 GOLDMAN, D.E.: Potential, impedance and rectification in membranes.
J.gen.Physiol. 24, 37-60 (1943)

57 HEILBRUNN, L.V.: The viscosity of protoplasm.
in: Protoplasmatologia - Hdb.d.Protoplasmaforschung Band II. Hrsg. L.V. Heilbrunn et al. Springer-Verlag Wien 1958

58 HEILBRUNN, L.V. and D. MAZIA: The action of radiation on living protoplasm.
in: Biological effects of radiation. Ed.by B.M.Duggan. McGraw Hill Ltd.New York and London 1936,
Vol. I, p. 624-640

59 HEINZ, E.und H. NETTER: Wasserhaushalt.
in: Hdb. der Zoologie. Hrsg. J.G. Helmke et al., de Gruyter-Verlag Berlin 1956, Band VIII, p. 1-46

60 HODGKIN, A.L. and A.F. HUXLEY: A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve.
J. Physiol. 117, 500-544 (1952)

61 HODGKIN, A.L. and B. KATZ: The effect of temperature in the electrical activity of the giant axon of the squid.
J.Physiol. 109, 240-249 (1949 a)

62 -- : The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid.
J.Physiol. 108, 37-77 (1949 b)

63 HODGKIN, A.L. and R.D. KEYNES: Active transport of cations in giant axon from Sepia and Loligo.
J.Physiol. 128, 28-60 (1955 a)

64 -- : The potassium permeability of a giant nerve fibre.
J.Physiol. 128, 61-88 (1955 b)

65 HÖFERT, M.: Versuche über strahleninduzierte Chemilumineszenz.
Inaug.Diss.München 1964

66 HÖRMANN, G.: Studien über die Protoplasmaströmung bei den Characeen. Fischer-Verlag Jena 1898

67 HOFF, J.H., van't: Die chemische Dynamik Verlag Vieweg & Sohn, Braunschweig 1901, 2. Auflage

68 HOPE, A.B.: Ionic relations of cells of Chara australis. V.: The action potential. Austral.J.Biol.Sci. 14, 312-322 (1961)

69 HOPE, A.B. and R.N. ROBERTSON: Bioelectric experiments and the properties of plant protoplasm. Austral.J.Sci. 15, 197-203 (1953)

70 HOPE, A.B. and N.A. WALKER: Ionic relations of cells of Chara australis. IV. Membrane potential differences and resistance. Austral.J.Biol.Sci. 14, 26-44 (1961)

71 HUG, O.: Biologische Sofortreaktionen auf schwache Strahlendosen. in: IXth Int.Congr.of Radiology. Hrsg. B.Rajewsky. Thieme-Verlag Stuttgart und Urban & Schwarzenberg München, 1960, p.1181-1195

72 -- : Hypotheses on the action mechanisms of the effect of ionizing radiation on the nervous system. in: The effects of ionizing radiations on the nervous system. IAEA Wien 1962, p. 489-498

73 HUG, O. und H. MILTENBURGER: Strahleninduzierte Turgorbewegungen (Radionastien) bei Mimosen und anderen sensitiven Pflanzen.
Naturwiss. 49, 499-511 (1962)

74 HUG, O., H. MILTENBURGER und H. ESCH: Elektrophysiologische Begleiterscheinungen strahleninduzierter Bewegungen bei Mimosen.
Biophysik 1, 374-379 (1964)

75 HUG, O. und H.-J. SCHLIEP: Immediate reactions of nerves and muscles to ionizing radiation.
in: The initial effects of ionozing radiations on cells.
in: Symposium Moskau 1960
Academic Press London-New York 1960, p. 287-300

76 ITO, M., P.G.KOSTYUK and T. OSHIMA: Further studies on anion permeability of inhibitory post-synaptic membrane of cat motorneurons.
J.Physiol. 164, 150-156 (1962)

77 JACOB, H.S. and I.H.JANDL: Effects of sulfhydryl inhibition on red blood cells. II. Mechanism of hemolysis.
J.clin.Invest. 41, 779-792 (1962)

78 KIRZON, M.V. and M.G. PSHENIKOVA: Propagation of non-impulse effects along a nerve from a region exposed to X-irradiation.
Biofizika 2, 686-697 (1959)

79 KOVÁKS, K.: Zur Biologie der Röntgenstrahlen.
Strahlentherapie 26, 313-328 (1927)

80 -- : Der Einfluß von Röntgenstrahlen auf die Diffusion und auf die Durchlässigkeit der Zellmembran.
Strahlentherapie 30, 77-85 (1928)

81 KROETZ, Ch.: Gewebsbeeinflussung durch Röntgenstrahlen. Strahlentherapie 22, 319-321 (1926)

82 -- : Zur Biochemie der Strahlenwirkungen. VI: Der Röntgenstrahleneinfluß auf die Durchlässigkeit der überlebenden Froschhautmembran. Biochem.Z. 191, 250-262 (1927)

VII: Der Röntgenstrahleneinfluß auf die Zusammensetzung künstlich gesetzter Peritonealflüssigkeit. Biochem.Z. 191, 263-270 (1927)

83 -- : Über die Lichtwirkung vom physikalisch-chemischen Standpunkt aus. Strahlentherapie 28, 92-102 (1928)

84 LIEBER, G.D.: Physikalisch-chemische Wirkungen der Röntgenstrahlen im Organismus. Strahlentherapie 20, 93-102 (1925)

85 -- : Die physikalisch-chemischen Wirkungen der Röntgenstrahlen im Organismus. Fortschr.Röntgenstrahlen 33, 73 (1925) - Kongreßheft

86 LIECHTI, A.: Zur Beeinflussung von bioelektrischen Potentialdifferenzen durch die Röntgenstrahlen. Biochem.Z. 171, 240-255 (1926)

87 LIECHTI, A. und W. WILBRANDT: Untersuchungen über die Strahlenhämolyse. I.: Hämolyse durch Röntgenstrahlen. Strahlentherapie 70, 541-567 (1941)

88 LINDACKERS, K.H.: Praktische Durchführung von Abschirmungsberechnungen. Thiemig-Verlag München 1962

89 LING, G.N.: A physical theory of the living state. Blaisdell Publ. Co. New York 1962

90 LUND, E.J.: Bioelectric fields and growth. Univ. Texas Press Austin 1947

91 MAGEE, J.L.: Elementary processes in radiation chemistry. III. Charge transfer mechanisms. J.Phys.Chem. 56, 555-559 (1952)

92 MAGEE, J.L. and K. FUNABASHI: The clustering of ions in irradiated gases. Rad.Res. 10, 622-635 (1959)

93 MEAD, J.F.: The irradiation-induced autocidation of linoleic acid. Science 115, 470-472 (1952)

94 MERKER, H.J.: Über den Aufbau der Zellmembran. Berl.Med. 115, 599-607 (1964)

95 MEVES, H.: Die Wirkung von $NiCl_2$ auf den isolierten Ranvierschen Schnürring. Pflüg.Arch.ges.Physiol. 278, 273-295 (1963)

96 MULLINS, L.J.: Efflux of chloride ions during the action potential of Nitella. Nature (London) 196, 986-987 (1962)

97 NETTER, H.: Theoretische Biochemie Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959

98 NEU, L. und V. NEU: Membranpermeabilitätsstudien der menschlichen Haut und ihre Beziehung zur Einwirkung der Röntgenstrahlen auf das lebende Gewebe. Strahlentherapie 56, 692-702 (1936)

99 NOVACK, P. and B. SHAPIRO: The effect of S-(2-aminoethyl) thiuranium bromide hydrobromide (AET) on the sodium uptake of irradiated human erythrocytes.
Fed.Proc. 19, 355 (1960)

100 OSTERHOUT, W.J.V.: The decrease of permeability produced by anesthetics.
Bot.Gaz. 61, 148-158 (1916)

101 -- : Calculations of bioelectric potentials. I.: Effects of KCl and NaCl on Nitella.
J.gen.Physiol. 13, 715-737 (1930)

102 : The mechanisms of accumulation in living cells.
J.gen.Physiol. 35, 579-594 (1952)

103 OSTERHOUT, W.J.V.: Apparent violations of the all-or-none law in relation to potassium in the protoplasm.
in: Electrochemistry in biology and medicine. Ed.by T.Schedlovsky. Wiley & Sons Inc., New York 1955, p. 213-224

104 OSTERHOUT, W.J.V. and E.S. HARRIS: Protoplasmic asymmetry in Nitella as shown by bioelectric measurements.
J.gen.Physiol. 11, 391-406 (1928)

105 -- : The concentration effect in Nitella.
J.gen.Physiol. 12, 761-781 (1929)

106 OSTERHOUT, W.J.V. and S.E. HILL: Action curves with single peaks in Nitella in relation to the movement of potassium.
J.gen.Physiol. 23, 743-748 (1940)

107 PAECH, K.: Beiträge zur Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit in lebenden pflanzlichen Geweben. Planta (Berlin) 31, 265-294 (1940)

108 -- : Veränderungen des Plasmas während des Alterns der Zellen, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Narkose von Pflanzen. Planta (Berlin) 31, 295-348 (1940)

109 PASYNSKII, A.G.: The theory of the biological actions of radiation. Biofizika 2, 566-568 (1957)

110 PHILIPS Electronic Instruments, Novelco Reporter, May/June 1962

111 PIHL, A. and T. SANNER: X-ray inactivation of papain in solution. Rad.Res. 19, 27-41 (1963)

112 PLATZMANN, R.L. and J. FRANCK: A physical mechanism for the inactivation of proteins by ionizing radiation. in: Symposium on information theory in biology. Ed. by H.P. Yockey et al., Pergamon Press 1958, p. 262-275

113 PLATZMANN, R.L. and H. FROEHLICH: Energy loss of moving electrons to dipolar relaxation. Phys.Rev. 92, 1152-1154 (1953)

114 PORTELLA, A., B. BRANDES, G.H. BOURNE, M. HINES, P. STEART and B.L. REDD: Effects of radiation of nerve on muscular response. Nature (London) 184, 734-735 (1959)

115 RASMUSSEN, H., J.L.SCHWARTZ, M.A.SCHOESSLER and G. HOCHSTER: Studies on the mechanism of action of vasopressin. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 46, 1278-1287 (1960)

116 ROTHENBERG, M.A.: Studies on permeability in relation to nerve function. II. Ionic movements across axonal membranes.
Biochim.biophys.Acta 4, 96-114 (1950)

117 ROTHSTEIN, A. and R.I.WEED: The functional significance of sulfhydryl groups in the cell membrane.
Atomic Energy Commission Research and Development
Report UR-- 633, Contract W 7401-eng.-49
(Nov. 29, 1963)

118 SATO, M., G. AUSTIN and Y. HIDETO: Radiation and whole light effects on molluscan nerve cells in vitro.
Rad.Res. 31, 452-466 (1967)

119 SCHUBERT, M.: Biologische Röntgenstrahlenwirkung, ihre Erforschung mittels der Gewebeexplantationsmethode.
Strahlentherapie 26, 425-471 (1927)

120 SCHWARTZ, J.L., H. RASMUSSEN, M.A. SCHOESSLER, L. SILVER and C.T.O. FONG: Relation of chemical attachment to physiological action of vasopressin.
Proc.Natl.Acad.Sci. USA 46, 1288-1298 (1960)

121 SCHWARZ, G.: Über die Wirkung der Radiumstrahlen. (Eine physiologisch-chemische Studie am Hühnerei.)
Pflüg.Arch.ges.Physiol. 100, 532-546 (1903)

122 SEN, B.: A method for measuring the change of permeability to ions of single cells under electric stimulation.
Am.J.Botany 45, 527-531 (1931)

123 SHAPIRO, B., G. KOLLMANN and J.ASNEN: Mechanism of the effect of ionizing radiation on sodium uptake by human erythrocytes. Rad.Res. 27, 139-159 (1966)

124 SHEPPARD, C.W. and G.E. BEYL: Cation exchange in mammalian erythrocytes. III. The prolytic effect of X-rays on human cells. J.gen.Physiol. 34, 691-704 (1951)

125 SHEPPARD, C.W. and M.STEWART: The direct effects of radiation on erythrocytes. J.cell.comp.Physiol. 39, 189-215 (1952)

126 SPYROPOULOS, C.S., I. TASAKI and G.HAYWARD: Fractionation of tracer effluxes during action potential. Science 133, 2064-2065 (1961)

127 SRB, V.: Immediate and short-term changes in cell permeability after X-irradiation. Rad.Res. 21, 308-313 (1964)

128 -- : Dauerhafter Einfluß der Röntgenstrahlen auf Zellpermeabilität. Exp.Cell.Res. 34, 318-324 (1964)

129 -- : Irreversible effects of ionizing RTG-radiation on the osmotic properties of the epidermal cells of Allium cepa L. bulbs. Biologia Plantarum (Prag) 7, 270-284 (1965)

130 STRAUSS, O.: Über den Einfluß der Röntgenstrahlen auf endozelluläre Stoffwechselvorgänge. Strahlentherapie 16, 195-207 (1924)

131 STUDENER, O.: Über die elektrische Komponente des Turgors und über chemische und Konzentrationspotentiale pflanzlicher Zellen. Planta (Berlin) 35, 424-444 (1947)

132 TASAKI, I. and K. FRANK: Measurement of the action potential of myelinated nerve fibre. Am.J.Physiol. 182, 572-578 (1955)

133 TASAKI, I. and M. FUJITA: Action currents of single nerve fibres as modified by temperature changes. J. Neurophysiol. 11, 311-315 (1948)

134 TEORELL, T.: Rectification in a plant cell (Nitella) in relation to electro-endosmosis. Z.physikal.Chemie (neue Folge) 15, 385-398 (1958) (Bonhoeffer-Gedenkband)

135 -- : An analysis of the current-voltage relationship in excitable Nitella cells. Acta physiol. Scand. 53, 1-6 (1961)

136 TING, T.P. and R. ZIRKLE: The kinetics of the diffusion of salts into and out of X-irradiated erythrocytes. J.cell.comp.Physiol. 16, 197-206 (1940)

137 TROTT, K.-R.: Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf Potential und Widerstand der isolierten Froschhaut. Inaug.Diss. München 1967

138 TYLER, A., A. MONROY, C.Y. KAO and H. GRUNDFEST: Membrane potential and resistance of the starfish egg before and after fertilization. Biol.Bull. (Woods Hole) 111, 153-177 (1956)

139 UMRATH, K.: Potentialmessungen an Nitella mucronata mit besonderer Berücksichtigung der Erregungserscheinungen.
Protoplasma 9, 576-597 (1930)

140 -- : Der Einfluß der Temperatur auf das elektrische Potential, den Aktionsstrom und die Protoplasmaströmung bei Nitella mucronata.
Protoplasma 21, 329-334 (1934)

141 -- : Über die Art der elektrischen Polarisierbarkeit und der elektrischen Erregbarkeit bei Nitella.
Protoplasma 34, 469-483 (1940)

142 -- : Zur Theorie der Polarisation an lebenden Zellen.
Protoplasma 36, 584-606 (1942)

143 -- : Über den Aktionsstrom und Stillstand der Protoplasmaströmung bei Nitella opaca.
Protoplasma 42, 77-82 (1953)

144 -- : Elektrophysiologische Phänomene.
in: Hdb.d.Pflanzenphysiologie, Hrsg. W. Ruhland
Springer-Verlang Berlin 1956, Band II, p. 747-776

145 -- : Der Erregungsvorgang.
in: Hdb.d.Pflanzenphysiologie, Hrsg. W. Ruhland
Springer-Verlag Berlin 1959, Band XVII/1, p. 24-110

146 WALKER, N.A.: Microelectrode experiments on Nitella.
Austral.J.Biol.Sci. 8, 476-489 (1955)

147 WALKER, N.A.: Ion permeability of the plasmalemma of the plant cell.
Nature (London) 180, 94-95 (1957)

148 -- : The electric resistance of the cell membrane in a Chara and a Nitella species.
Austral.J.Biol.Sci. 13, 468-478 (1960)

149 WATTENDORF, H.I.: Durch Alphastrahlen während der Deplasmolyse veränderte Harnstoffpermeabilität von Allium-Epidermiszellen.
Naturwiss. 51, 247-248 (1964)

150 -- : Immediate alterations of Urea permeability after alpha-irradiation of Allium epidermis cells.
Protoplasma 60, 162-168 (1965)

151 WEIDMANN, S.: Subthreshold rectifier properties of Nitella.
Acta physiol.Scand. 19, 218-229 (1949)

152 -- : Initiation of break response in Nitella.
Acta physiol.Scand. 19, 230-236 (1949)

153 ZACEK, J. and R. ROSENBERG: Action des rayons X sur la membrane des globules rouges.
Compt.Rend.Soc.Biol. 144, 462-464 (1950)

Lebenslauf

Am 11. März 1940 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr.med. dent. Erwin Röttinger und seiner Ehefrau Therese, geb. Miehle, in Augsburg geboren. Nach dem Besuch der Volksschule in Bobingen trat ich in das Realgymnasium in Augsburg ein und legte dort im Juli 1960 die Reifeprüfung ab. Im Herbst 1960 begann ich an der Universität München mit dem Studium der Zahnheilkunde und ein Semester später mit dem Studium der Medizin. 1961 bestand ich die naturwissenschaftliche, 1963 die ärztliche und zahnärztliche Vorprüfung.

In den folgenden klinischen Semestern führte ich das Medizinstudium ebenfalls in München weiter. Als Hilfsassistent nahm ich am physiologischen Praktikum bei Herrn Prof. Wagner und an den anatomischen Präparierübungen bei Herrn Prof. Wallraff teil. Seit Herbst 1963 beschäftigte ich mich am Strahlenbiologischen Institut der Universität unter Leitung von Herrn Prof. Hug mit dem Versuch einer intrazellulären polarographischen Sauerstoffmessung und mit den Wirkungen von Röntgenstrahlen auf Einzelzellen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit besuchte ich im Sommer 1965 die Universitäten Yale und Notre Dame in USA und famulierte anschließend noch an einem Krankenhaus in Toronto/ Kanada.

Nach der ärztlichen Prüfung im Dezember 1966 und dem Examen des ECFMG arbeitete ich als Medizinalassistent bei Herrn Prof. Bodechtel in innerer Medizin. Nach meiner jetzigen Tätigkeit an der II. Frauenklinik der Universität unter Herrn Prof. Fikentscher trete ich eine Stelle an der Chirurgischen Universitätsklinik unter Herrn Prof. Zenker an und beabsichtige meine Medizinalassistentenzeit mit einem Internship in USA abzuschließen.